



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

SENSORI IMPEDIMETRICI PER APPLICAZIONI BIOMEDICHE: CARATTERIZZAZIONE DI UN IMPEDENZIMETRO ED ESEMPI APPLICATIVI

Relatore: Prof.ssa Sarah Tonello

Laureando: Matteo Derossi

ANNO ACCADEMICO 2022 - 2023 Data di Laurea 25 Settembre 2023

SENSORI IMPEDIMETRICI PER APPLICAZIONI BIOMEDICHE: CARATTERIZZAZIONE DI UN IMPEDENZIMETRO ED ESEMPI APPLICATIVI

1- INTRODUZIONE

2- SPETTROSCOPIA D'IMPEDENZA IN AMBITO BIOMEDICO

- a. La spettroscopia di impedenza: definizioni e cenni storici
- b. Progresso storico di metodi e modelli per misura di bio-impedenza
- c. Stato dell'arte di sensori impedimetrici
- d. Principali problemi in misure di impedenza elettrica di oggetti biomedici

3- MODELLI E PARAMETRI DESCRITTIVI DI MISURE DI IMPEDENZA

- a. Proprietà elettriche dei tessuti biologici
- b. Modelli elettrici equivalenti di semplificazione

4- CARATTERIZZAZIONE DI UN ANALIZZATORE DI IMPEDENZA

- a. Setup hardware di misura (MFIA (Zurich Instrument))
- b. Calibrazione e bontà di misura tramite circuiti di prova
- c. Caratterizzazione in frequenza di resistenze a valore noto per confronto con analizzatore PalmSens3

5- ESEMPI DI CARATTERIZZAZIONE DI SENSORI STAMPATI

- a. Sensori di temperatura stampati: metodo di caratterizzazione e risultati
- b. Sensori di livello per ambito biomedico: metodo di caratterizzazione e risultati
- c. Codici MatLab per visualizzazione ed estrapolazione dati
- 6- CONCLUSIONI
- 7- BIBLIOGRAFIA

1- INTRODUZIONE

La spettroscopia di impedenza è una tecnica di misura della resistenza elettrica largamente utilizzata e sviluppata nell'analisi di campioni biologici dal 1960 sino ad oggi. Negli anni ha ottenuto un interesse ed un utilizzo esponenziale grazie ai suoi immediati vantaggi, non solo in ambito biomedico, ma anche in campo agricolo ed industriale. Una dimostrazione di ciò è rappresentata dal grafico del numero di pubblicazioni effettuate negli ultimi quarant'anni su PubMed, una banca dati biomedica accessibile gratuitamente online, sviluppata dal National Center for Biotechnology Information presso la National Library of Medicine (figura 1.1).



Figura 1.1 *Grafico delle pubblicazioni su PubMed per anno come risultato della ricerca con (Bioelectrical Impedance) OR Bioimpedance AND (Body Composition)* [1].

I vantaggi più immediati di questa tecnica sono: la relativa convenienza economica nell'acquisto della strumentazione, il riconoscimento di una vasta tipologia di stati patologici grazie anche alla disponibilità di numerosi valori di riferimento e, infine, la possibilità di una misura sicura, non invasiva e real-time sul paziente grazie all'esclusivo utilizzo di corrente alternata di lieve entità, non risultando dannosa per cellule e tessuti. Oltre a ciò, è bene considerare la possibilità di ottenere una misurazione autonoma, paragonabile con quella effettuata in laboratorio, tramite l'utilizzo di un singolo apparecchio, trasportabile, collegato ad elettrodi facilmente applicabili sulla cute in pochi e semplici passaggi. Questi vantaggi si concretizzano

nella pratica della telemedicina in cui i dati raccolti dal paziente stesso, in una struttura non ospedaliera, vengono trasmessi al laboratorio per essere elaborati, analizzati ed in seguito inseriti nella propria cartella clinica.

Gli esempi di utilizzo relativi alla biomedica sono innumerevoli, ne verranno citati brevemente alcuni, atti alla comprensione dell'enorme potenziale di questa tecnica nello studio del corpo umano. L'esempio lampante su cui la comunità scientifica si è più concentrata sin dagli albori è la valutazione dello stato di salute, di nutrimento e di idratazione, dell'intero corpo umano [2]. Con il passare del tempo si rese necessario uno studio più accurato, focalizzando l'attenzione a porzioni più limitate di quest'ultimo, si fece così sempre più spazio all'analisi della composizione di tessuti biologici, al fine di indagare la presenza di cellule tumorali e casi patologici. Proseguendo, si possono citare diverse applicazioni di analisi impedimetrica che, negli anni, hanno contribuito sempre più alla comprensione totale del sistema corpo ottenendo risultati sorprendenti [3], tra questi: lo studio delle proprietà elettriche della pelle [4], dell'affaticamento muscolare [5], dello studio del rene o nefrologia [6] [7], dell'obesità [8] [9], dello stato di gravidanza nelle donne [10], dello stato di avanzamento del morbo di Alzheimer [6] e, meno recentemente, la pletismografia [11]. Un ulteriore esempio esemplificativo, di più recente sviluppo, è lo studio della crescita di colture cellulari tramite spettroscopia di impedenza. Questa tecnica è definita non invasiva perché per la misura non è necessario entrare in contatto direttamente con le cellule, piuttosto permette di analizzare la crescita del complesso in generale, utilizzando il liquido di coltura come materiale conduttivo. Essa permette di analizzare la formazione e l'adesione delle cellule organizzate in sottili strati, detti layer cellulari, senza dover ricorrere alla conta cellulare, un processo caratterizzato da tempistiche di analisi molto lunghe [12].

Questo elaborato si pone come fine quello di offrire una descrizione generale del progresso avvenuto nelle metodologie, nelle assunzioni teoriche e nella strumentazione impiegate nell'analisi impedimetrica a partire dalle prime pubblicazioni del 1960, focalizzando l'interesse in ambito di tipo biomedico. Introdurrà le basi e i concetti teorici necessari a comprendere il suo funzionamento, offrendo uno sguardo d'insieme sulle applicazioni e sulle tecnologie sviluppate sino ad oggi, analizzando pregi e difetti rispetto alle più classiche metodologie meno dirette e più invasive. Grazie al supporto

offerto dal laboratorio di Ingegneria Tissutale dell'Università di Brescia, verrà esposta una metodologia applicata ad un'esperienza di laboratorio, volta alla caratterizzazione di un analizzatore di impedenza e alla caratterizzazione impedimetrica in frequenza di sensori stampati, mettendo in luce i comportamenti elettrici delle componenti di un sistema di misura impedimetrico e di vari tessuti biologici. Seguirà una breve presentazione sul setup hardware di misura, sui principali problemi riscontrati nelle misurazioni, sull'utilizzo del software del sistema di misurazione (LabOne) e sul confronto con il meno recente analizzatore PalmSense3. In conclusione, verranno esposti e discussi i risultati della caratterizzazione di sensori di temperatura e di livello, ottenuti tramite elaborazione e visualizzazione con codici MatLab.

2- SPETTROSCOPIA DI IMPEDENZA IN AMBITO BIOMEDICO

2a. La spettroscopia di impedenza: definizioni e cenni storici

L'impedenza (Z) di un tessuto biologico detta bio-impedenza, o più in generale, l'impedenza di un corpo qualsiasi, rappresenta l'opposizione esercitata dal corpo stesso allo scorrere della corrente alternata AC al suo interno. Quest'opposizione è influenzata dalle caratteristiche fisico-chimiche del materiale, come la conduttività elettrica e la resistenza elettrica. Considerando un corpo generico, esso può essere semplificato come un circuito elettrico al cui interno sono presenti resistenze, condensatori ed induttori. L'impedenza può essere quindi suddivisa in due componenti principali: la resistenza (R) e la reattanza (X). La resistenza è il contributo di opposizione alla conduzione di corrente elettrica, e nel corpo umano essa è spesso attribuita a fluidi intra ed extracellulari e dipende dalla resistività intrinseca dei vari materiali. La reattanza, invece, è il contributo di isolamento offerto principalmente dalle capacità e dalle induttanze con i relativi processi di carica e di scarica, il che per quanto riguarda il corpo umano è il comportamento tipico delle membrane cellulari [13] che, a causa della loro struttura a doppia membrana fosfolipidica, agiscono come due armature parallele caratteristiche dei condensatori.

Il concetto di impedenza (equazione 2), misurata in Ohm (Ω), generalizza quindi l'omonima legge (equazione 1) estendendo il concetto di resistenza a tutti i circuiti funzionanti in regime sinusoidale:

$$\mathbf{R} = \mathbf{V} \mathbf{I}^{-1} \tag{1}$$

$$Z(t) = v(t) i(t)^{-1}$$
(2)

Correnti (I) e tensioni (V) sono quindi del tipo:

$$i(t)=I_M \cos(\omega t+\alpha)$$

 $v(t)=V_M \cos(\omega t+\alpha)$

Tramite la regola di derivazione della trasformata di Steinmetz, a partire da una funzione sinusoidale del tipo appena considerato, si può ottenere un numero esponenziale complesso detto fasore:

$$A = A_M e^{j\alpha} = A_M (\cos\alpha + j \sin\alpha)$$

Considerando quindi i fasori di impedenza (Z), resistenza (R) e reattanza (X) si ottiene:

$$Z = VI^{-1} = R + jX \tag{3}$$

$$(Z)^2 = (R)^2 + (X)^2$$
(4)

Solitamente viene considerato un modello elettrico equivalente del tipo RC ma, ove è necessario ottenere una migliore approssimazione nel calcolo dell'impedenza, possono essere considerati circuiti RCL che, oltre al contributo delle capacità (C) considerare anche quello offerto dalle induttanze (L). La reattanza (X) è composta quindi da una parte capacitiva (X_C) ed una parte induttiva (X_L) (figura 2.2). Si ottiene che l'equazione 3 diventa più in generale:

$$Z = R + j(X_{L} - X_{C}) = R + j\omega L - (j\omega C)^{-1}$$
(5)

ove ω detta frequenza radiale è definita, a partire da f frequenza applicata, come $\omega = 2\pi f$



Figura 2.2

Componenti della risposta in frequenza di un circuito RCL ottenuti con impedenzimetro MFIA Si nota come l'effetto resistivo (azzurro) non dipenda dalla frequenza ma presenta una risalita ad alte frequenze a causa della non idealità, l'effetto capacitivo (giallo) tenda a zero ad una frequenza di risonanza per poi seguire l'effetto induttivo dai cavi e come l'effetto induttivo (rosso) vada ad aumentare all'aumentare delle frequenze. Ponendo questi elementi in serie si può notare che l'effetto del circuito RCL (verde) abbia un comportamento somma di questi tre effetti.

Lo strumento di analisi, ottenute le grandezze fisiche di corrente e voltaggio, potrà definire l'impedenza dalla legge di Ohm generale (equazione 5) ed un ulteriore indice strettamente correlato alle variabili fisiologiche, l'angolo di sfasamento 9 (rad):

$$\vartheta = \arctan(XR^{-1})$$
 (6)

Da qui si ottiene che l'angolo di sfasamento esprime il valore, in radianti, del ritardo/anticipo che la corrente I_t presenta rispetto alla tensione o viceversa:

$$\mathbf{I}_{t} = \mathbf{I}_{0} \cos\left(\omega t + \vartheta\right) \tag{7}$$

$$V_t = V_0 \cos(\omega t + \vartheta) \tag{8}$$

Brevemente si possono citare i casi particolari in cui l'angolo 9 è di 0°, ossia i due segnali sono in fase e presentano picchi sincroni, 90° in cui i picchi delle due sinusoidi dette in quadratura sono sfasati di un quarto di periodo ed infine i 180° in cui esse sono dette in controfase poiché per ogni cresta di una, l'altra presenta una gola.

Si ricorda inoltre che l'eventuale segno "-" davanti all'angolo 9 rappresenta uno spostamento concorde all'asse delle ascisse positive, al contrario, il segno "+" rappresenta uno spostamento in direzione negativa delle ascisse. Ottenuti i parametri dei fasori: di corrente (I), voltaggio (V), impedenza (Z), resistività (R), reattanza (X) e angolo di sfasamento (9), si ha la possibilità di descrivere in modo completo il circuito elettrico equivalente in corrente alternata. Tutto ciò è utilizzabile a partire dalla comprensione del principio fondamentale dell'analisi bio-impedimetrica. Esso esprime la relazione tra le caratteristiche geometriche di un conduttore, semiconduttore o isolante, e la sua resistenza elettrica, secondo la legge:

$$Volume = \rho L^2 R^{-1}$$
(9)

Ove ρ è la resistività (Ω cm), L è la lunghezza caratteristica (cm) e R è la resistenza elettrica del conduttore (Ω).

L'idea alla base dello sviluppo di questa metodologia fu offerta originariamente dagli studi effettuati su tessuti e cellule, i quali portarono all'osservazione di cambiamenti nella distribuzione di fluidi corporei come risultato di interventi o disfunzioni. Nel corso degli anni si è sempre più imposta e confermata l'ipotesi che il corpo umano possa essere semplificato suddividendolo in due componenti: massa magra (FFM) e massa grassa (FM). La prima può essere espressa come la somma tra massa cellulare (BCM), massa ossea e acqua extracellulare (ECW), la seconda esprime invece la quantità totale di lipociti ed il loro grado di riempimento che varia a seconda degli stati di nutrimento, ipo o ipercalorici. Un eccesso di ECW nel corpo potrebbe indicare: la presenza di un edema in pazienti a rischio cardiaco [14], la presenza di un linfoedema in pazienti affetti dal cancro in seguito ad un intervento [15] oppure può essere utilizzato come indice per avere una stima dei fluidi da rimuovere tramite ultrafiltrazione in pazienti con carenze renali [16]

La BCM (body cell mass) è un indice molto rilevante perché rappresenta la parte metabolicamente attiva del corpo umano, protagonista dell'attività di muscoli [17] e viscere sotto forma di scambio di ossigeno, glucosio-ossidasi e componenti cellulari ricche di potassio. Si è verificato che questa frazione corporea, considerata proporzionale all'acqua intracellulare (ICW), comprende i tessuti di maggiore interesse rispetto allo stato di attività, nutrimento o fonte di disfunzioni nel nostro corpo. La quantificazione della BCM si è posta come importante obbiettivo degli sforzi della società scientifica risultando molto importante nella clinica di pazienti delle fasce di età più giovani poiché la sua decrescita è spesso monito di disfunzioni, morbilità e mortalità [18] (figura 2.1).



Figura 2.1

Esempi di disfunzioni e loro indici caratterizzanti

Si può notare come uno sfasamento tra ECW e BCM può essere ricondotto ad uno stato di mal nutrimento poiché rappresenta una carenza di cellule metabolicamente attive. L'idratazione è invece legata alla quantità di fluidi extra cellulari ECW [19].

Con il fine di migliorare sempre più le prestazioni e l'utilità clinica di questa procedura, negli anni, furono proposte e testate diverse procedure per la misurazione di questo indice fino ad arrivare a quella che viene definita spettroscopia di impedenza o misurazione impedenziometrica.

L'equazione 9 fu il punto di partenza da cui i pionieri Thomasset nel 1962 [20], Hoffer nel 1969 [21] e Lukaski nel 1985 [22], misero le basi per lo sviluppo di questa scienza e successivamente concentrarono l'attenzione della comunità scientifica su di essa. Nella loro pubblicazione, Lukaski e colleghi, tramite vari esperimenti, dimostrarono una significativa correlazione (r = 0.95-0.98) tra il quoziente di impedenza $aL^2 R^{-1}$ (ove a è una costante specifica per la popolazione del soggetto) [19] e alcune caratteristiche utili all'analisi della composizione del corpo umano quali: la massa magra totale (FFM o fatfree mass), l'acqua corporea totale (TBW o total body water) e la massa totale di componenti cellulari metabolicamente attivi (BCM o body cell mass), misurato come quantità totale di potassio presente nell'organismo. I risultati pubblicati da Lukaski furono solamente teorizzati e proposti anni prima da Thomasset e Hoffer, i quali si limitarono ad ottenere misurazioni non sufficientemente precise sulla TBW. Questo importante passo in avanti ottenuto da Lukaski, rispetto ai due colleghi, è da attribuire, come spesso accade, all'avanzamento tecnologico degli strumenti a disposizione degli studi di ricerca ed a nuovi metodi analitici per le semplificazioni ed assunzioni sulla composizione dei vari tessuti del corpo umano [1].

2b. Progresso storico di metodi e modelli per misura di bio-impedenza

Le prime tecnologie riguardanti lo studio d'impedenza furono ideate in America dal dottor Nyboer Jan nel 1950 [23]. Le sue ricerche miravano all'analisi del flusso vascolare periferico tramite pletismografia ad impedenza, ottenendo risultati che associarono le modificazioni del volume conduttivo di sangue a modificazioni del valore d'impedenza del conduttore. Nel 1962 Thomasset sperimentò una tecnica di analisi impedenziometrica bipolare invasiva che prevedeva l'ausilio di due elettrodi sottocutanei (mano e piede) per monitorare lo stato ionico di fluidi intra ed extracellulari. Pochi anni dopo, nel 1969, Hoffer approfondì questi studi con

l'obbiettivo di migliorare la vestibilità e la comodità degli elettrodi utilizzati, arrivando all'utilizzo di quattro elettrodi cutanei. Tutt'oggi la più comune metodologia di analisi di impedenza consiste nell'utilizzo di due, quattro o più elettrodi: nel caso dell'analisi a quattro elettrodi, due elettrodi vengono posizionati nella parte inferiore del corpo, quali caviglia e collo del piede, gli altri due nella parte superiore ossia, dorso della mano e polso. Tra i due elettrodi più distanti dal centro del corpo sarà imposta una corrente alternata di lieve entità ($\cong \mu A$) necessaria a misurare il voltaggio tra i due restanti (figura 2.3). [13]



Figura 2.3

Diagramma del modello a quattro e sei elettrodi per misure di bio-impedenza. Una corrente alternata è applicata ai due elettrodi distali (II e I4). Il voltaggio viene misurato tra i due elettrodi più vicini (SI e S4). Tra gli elettrodi II e I2 è presente il generatore di corrente alternata. Z è l'impedenza del medium biologico [19].

Per completezza, con "maggior distanza dal centro del corpo", non si intende una misura in linea d'aria bensì il percorso più lungo che la corrente elettrica effettuerebbe all'interno del corpo, quindi, verosimilmente, i due elettrodi posizionati sul dorso della mano e sul collo del piede. L'avanzamento tecnologico nelle metodologie per la valutazione dello stato di salute, negli anni, fu necessario ad una rivoluzione del settore.

Intorno al 1977 fu dimostrato in varie pubblicazioni, che il potassio è un macroelemento essenziale nel nostro organismo ed è coinvolto nella regolazione della contrazione muscolare [17], nella trasmissione nervosa [24], nel flusso di liquidi e minerali intra ed extracellulari [7] [25], nella pompa elettrolitica e nello scambio di ossigeno. Inoltre, si scoprì che esso si trovava quasi esclusivamente in muscoli e viscere (95%) ed in minima percentuale in grasso e ossa; da qui nacque subito una stretta relazione tra TBK (quantità di potassio totale nel corpo) e BCM.

Per calcolare il TBK, è possibile sfruttare la conta indiretta del radioisotopo 40 del potassio (⁴⁰K) diluito, tramite la formula:

$$K_e = R (TBW) - Na_e$$
(10)

ove R è definito come il rapporto tra Na/K diviso per il contenuto d'acqua (TBW) [26].

La TBW, come la ICW, è possibile stimarla tramite il metodo delle diluizioni isotopiche del potassio o del deuterio [27], la ECW tramite la conta del bromuro [28]; nonostante le misure effettuate con questa metodologia siano considerate come misura "golden standard", essa è limitata dal fatto che si compone di procedimenti laboriosi, invasivi e costosi, rendendo necessario l'utilizzo di un gruppo di esperti per la misurazione. Queste limitazioni furono bypassate con l'avvento della spettroscopia di impedenza, una tecnica più diretta, veloce, economica e facile da usare.

Dalle grandezze misurate è possibile, tramite alcune semplificazioni offerte dalla teoria dei circuiti equivalenti, andare a descrivere in modo completo le caratteristiche elettriche dell'oggetto in analisi per poi associarle a caratteristiche fisico-chimiche utili, ad esempio, alla clinica del paziente, all'analisi dello stato di nutrimento di terreni agricoli oppure allo screening di prodotti alimentari. Sebbene lo schema di posizionamento degli elettrodi rimase pressochè immutato, quello che con il passare degli anni e l'utilizzo sempre più elevato di questa tecnica si rese necessario, fu un aggiornamento di tutta la catena di misurazione per ottenere dati più sicuri e precisi, con i quali studiare metodi e modelli predittivi. Un'importante applicazione sviluppata nell'ultimo decennio, per la valutazione dello stato di salute e composizione del corpo, è quella della bilancia impedenziometrica: un apparecchio formato da una piattaforma, detta bilancia, ed un manubrio da sorreggere con entrambe le mani, le piante dei piedi fungeranno da elettrodi inferiori, il manubrio è concepito per associare i due palmi delle mani ai due elettrodi superiori, necessari a chiudere la catena di misurazione. L'apparecchio permette di rilevare simultaneamente le caratteristiche elettriche di impedenza ed il peso corporeo del soggetto per poi analizzare i dati ricevuti e stimare lo stato fisico del paziente. Con un procedimento semplice ed a portata di tutti, questa tecnologia, rende possibile un monitoraggio in un ambiente domestico con una determinata periodicità.

Oltre a tutte le limitazioni fisiche e le successive scoperte, un ruolo fondamentale nell'avanzamento scientifico lo svolsero i vari aggiornamenti nei modelli di predizione di alcuni indici come la TBW, la FFM, ICW e ECW (acqua intracellulare e l'acqua extracellulare). Questi indici ed il loro utilizzo, presentano un grado di incertezza che è in stretta relazione con determinate assunzioni poste a priori utili a semplificare l'analisi. Viene assunto che il corpo umano può essere suddiviso in cinque cilindri isotropi a sezione costante, la cui impedenza dipende dalla resistività specifica e dalle caratteristiche geometriche, assumendo ulteriormente che, sommando l'impedenza di ogni compartimento, si ottiene l'impedenza totale poiché risultano in serie: due arti superiori (40%), due arti inferiori (50%) e il tronco (10%). Si ricorda che minore è l'impedenza ottenuta da una misurazione globale del corpo, maggiore sarà l'idratazione dei tessuti e la presenza di massa magra, questo poiché l'acqua ha un'elevata conducibilità ed è contenuta in maggior parte (73%) nel compartimento corporeo detto fat-free mass.

La FFM può essere ricavata da differenti modelli corporei, il più semplice è quello bicompartimentale, che assume il corpo composto solamente da FFM e FM. Con un'approssimazione più precisa invece, esso può essere suddiviso in un modello multicompartimentale cellulare, ad esempio, con quattro compartimenti ossia: massa cellulare, solidi extracellulari, fluidi extracellulari e grasso, con assunzione di densità costante all'interno dello stesso compartimento; e ancora, da un modello multicompartimentale molecolare a cinque compartimenti: acqua, grasso, proteine, minerali e glicogeno.

Oltre a queste approssimazioni strutturali, poiché non è possibile ottenere un valore di resistività ρ e resistenza R generali per tutti i pazienti, vengono utilizzate equazioni statistiche di regressione. Al fine di diminuire l'errore di derivazione e migliorare le tecniche di predizione con BIA ogni paziente può essere categorizzato, a partire dai dati contenuti in database di studi di popolazione, secondo vari aspetti fisici che lo contraddistinguono, come ad esempio l'età (Lohman 1992) [29], il sesso, l'etnia (Rising 1991 et al.) [30], il grado di attività fisica (Houtkooper et al. 1989) e il livello di adiposità (Segale 1988). Queste categorie forniscono equazioni utili a considerare la tipologia di composizione corporea di ogni paziente il più precisamente possibile.



Figura 2.4 Schema della rappresentazione semplificata della composizione corporea ove TBW (acqua corporea totale), BCM (massa cellulare) e LBM intesa come FFM (massa magra) [19].

2c. Stato dell'arte di sensori impedimetrici

Tutt'oggi le tecnologie sono in continua evoluzione al fine di ottenere una sempre migliore misurazione, questo è possibile grazie allo studio e allo sviluppo di tutte le componenti presenti nella catena di misurazione. La struttura e la forma degli elettrodi, fulcro della misurazione elettrica, è fondamentalmente comune a tutte le misurazioni di biopotenziali, essi sono semicelle elettrochimiche formate da un metallo o da altro materiale conduttore (es. carbonio, polimeri conduttivi) e da un elettrolita. Si compone così un trasduttore composto da un'interfaccia tra un sistema a conduzione ionica ed uno a conduzione elettronica. Fondamentale è l'utilizzo e la ricerca di nuovi materiali utili a rendere i sensori sempre più sensibili al segnale d'interesse e allo stesso tempo discriminanti verso i rumori dell'attività biologica o quelli esterni. Alcuni di questi, largamente utilizzati grazie alla loro reperibilità ed elevata conducibilità elettrica, sono i metalli e gli ossidi dei metalli come lo zinco, il rame, il nichel ed il ferro. Con il diffondere di questa tipologia di misure in svariate tecniche biomediche, risultarono necessari, per ovvie applicazioni, elettrodi maggiormente biocompatibili, ci fu così l'avvento di materiali più nobili e meno inclini all'ossidazione come l'oro, l'argento, il platino e il palladio. Successivamente, grazie alla duttilità del carbonio, si andò oltre la semplice composizione fisica dell'elettrodo, andando ad operare direttamente sulla struttura dello stesso. Grazie a queste caratteristiche del carbonio, con l'ausilio di sofisticate tecnologie di stampa e progettazione come la tecnica della stampa 3D, fu possibile sviluppare nano-strutture come array di nano-fibre, nano-tubi, nano-fili, nanopori, nano-gap e nano-canali [31] utili ad aumentare la superficie di contatto, adatte a diverse funzionalizzazioni ed incrementare notevolmente la risposta del sensore allo stimolo.

A favorire il miglioramento delle performance della misura, sono stati sviluppati gel composti da matrici reticolate ed elettroliti che permettono una trasmissione cuteelettrodo, riducendo le attenuazioni e anche l'influenza di vibrazioni e movimenti involontari. Ruolo fondamentale lo ebbero anche gli analizzatori di impedenza, sempre più dinamici e precisi. Lukaski nel trattato del 1985, nonostante i riconosciuti passi in avanti rispetto ai suoi colleghi, fu limitato ad eseguire la ricerca utilizzando un dispositivo che ammetteva la misurazione ad un'unica frequenza, 50kHz (SFBIA). Dato che i valori di resistenza, reattanza e angolo di sfasamento dipendono dalla frequenza imposta dalla corrente alternata e che i tessuti biologici hanno comportamenti elettrici differenti a seconda delle frequenze a cui sono sottoposti, è immediato riconoscere quanto le scoperte ottenute fino a quel punto, fossero ancora incomplete. Ad oggi sono presenti sul mercato innumerevoli analizzatori di impedenza che lavorano in un range di frequenze variabile da circa 1mHz a 5 Mhz (MFIA), con la capacità di ottenere una misurazione di impedenze, con valori molto distanti tra loro, pur mantenendo un'incertezza accettabile (0.05-0.1) in tutto il campo di lavoro. Negli ultimi anni si è posto come avanzamento tecnologico necessario per queste apparecchiature, la possibilità di miniaturizzarli affinché possano diventare strumenti trasportabili e rendere il loro utilizzo facile e sicuro.

2d. Principali criticità in misure di impedenza elettrica di oggetti biomedici

Trattando dei principali problemi in misure di impedenza elettrica è opportuno considerare, oltre alle incertezze intrinseche nella fabbricazione del set-up di misura, anche tutte quelle condizioni per cui il misurando, essendo di carattere biologico, presenta squilibri o condizioni parafisiologiche in grado di alterare la rilevazione. A causa dell'idea strutturale di questa metodologia, che presenta approssimazioni e semplificazioni successive, le incertezze che la caratterizzano aumentano con la loro propagazione nelle successive approssimazioni. Analizzando la parte di misurazione

hardware si può discutere dell'influenza sull'accuratezza e sulla precisione causata dalla variabilità intrastrumentale ed interstrumentale.

La variabilità intrastrumentale può essere esemplificata da tutti quei problemi derivanti da condizioni intrinseche come la taratura, la cui definizione rigorosa è enunciata nella terza edizione del Vocabolario Internazionale di Metrologia (VIM 3):

"La taratura è un'operazione, eseguita in condizioni specificate, la quale in una prima fase stabilisce una relazione tra i valori di una grandezza, con le rispettive incertezze di misura, forniti da campioni di misura, e le corrispondenti indicazioni, comprensive delle relative incertezze di misura associate, e in una seconda fase usa queste informazioni per stabilire una relazione che consente di ottenere un risultato di misura che consente di ottenere un risultato di misura a partire da un'indicazione."

Essa non è da confondere con il concetto di calibrazione a cui si rimanda nuovamente al Vocabolario Internazionale di Metrologia:

"La regolazione di un sistema di misura è l'insieme di operazioni svolte su un sistema di misura, affinché esso fornisca indicazioni prescritte in corrispondenza di determinati valori di una grandezza da sottoporre a misurazione."

Analizzando ora l'influenza della variabilità interstrumentale sulla misura, essa può essere espressa come l'insieme degli errori sistematici causati spesso dall'utilizzo di diverse condizioni operative, da una diversa fabbricazione o da una diversa tecnologia di progettazione dello strumento in uso. L'errore interstrumentale rappresenta quindi, tutti i fattori che possono limitare il possibile confronto tra dati ottenuti da strumentazioni differenti, ne è esempio l'utilizzo di diverse equazioni predittive.

Oltre a questa tipologia di errori è da considerare di assoluta rilevanza e di più difficile compensazione quella legata alla presenza di condizioni per cui, l'oggetto dell'analisi, subisce una variazione che altera le misurazioni e la loro interpretazione. Queste condizioni vengono definite parafisiologiche e si riferiscono a situazioni che si discostano dal concetto di normalità ma che non presentano una forma di patologia.

La più comune condizione che potrebbe alterare la misurazione della quantità di massa è lo stato di idratazione, è stato verificato come uno stato di digiuno solido e liquido possa influenzare notevolmente la rilevazione sul soggetto; allo stesso modo un esercizio aerobico intenso può determinare una riduzione della resistenza a causa di uno squilibrio tra elettroliti corporei e TBW. Anche la temperatura corporea influisce significamente sulle caratteristiche elettriche del corpo umano, aumentandola, si riscontra una decrescita della resistenza totale, rendendo non attendibili le misurazioni effettuate in condizioni di ipertermia o ipotermia. Volendo essere ancora più precisi ricordiamo che il periodo premestruale nella donna causa uno scompenso dell'equilibrio corporeo che porta all'alterazione degli indici bioimpedenziometrici, rendendo necessario nell'analisi l'utilizzo di equazioni di previsione specifiche.

Analizzando ora il sito di applicazione degli elettrodi si può affermare che anche la cute presenta caratteristiche elettriche molto variabili: essa tramite la sudorazione può influenzare il livello di adesione degli elettrodi e può generare un ulteriore strato conduttivo non desiderato e non bilanciato nelle formule predittive. Essa può, esempio di pratica comune, essere pulita con alcol etilico che però, causa un aumento della sua conducibilità. Per ottenere una buona misurazione di impedenza è quindi necessario, prima di tutto, utilizzare sempre lo stesso strumento e tararlo prima dell'uso, posizionare precisamente gli elettrodi nelle medesime zone di analisi in tutte le misure ed utilizzare sempre la stessa tipologia di elettrodi e di solvente per pulire la cute.

Oltre a ciò, è bene saper riconoscere un possibile stato di disidratazione e allestire un ambiente lavorativo termicamente idoneo e stabile. Per una buona ripetibilità nella misura è necessario stabilire protocolli di misura ripetibili: uno di questi, fornito dall'Istituto ATS per una misurazione Hand-to-Foot, stabilisce che il soggetto deve essere posizionato supino su un lettino da visita, a digiuno da almeno quattro ore, avere la vescica vuota, non aver praticato attività fisica importante nelle ultime dodici ore, essere astinente da quarantotto ore per l'alcol e almeno sette giorni da diuretici. Tutti questi accorgimenti sono necessari per ottenere database di misurazioni il più possibile confrontabili tra loro ma, essendo una misura indiretta, sarà in ogni caso soggetta ad errori di approssimazione. Il livello di errore che si può considerare accettabile, nella stima della composizione corporea, è minore di 3,5 kg in un maschio adulto e minore di 2,5 kg per una donna. Come citato precedentemente nel paragrafo 2b è importante considerare che l'utilizzo di equazioni di classificazione specifiche sia effettivamente corretto e che queste rappresentino efficacemente la tipologia del soggetto in analisi.

3- MODELLI E PARAMETRI DESCRITTIVI DI MISURE DI IMPEDENZA

3a. Proprietà elettriche dei tessuti biologici

La bioimpedenziometria analizza lo stato di salute di un paziente grazie alla relazione che intercorre tra caratteristiche fisiche ed elettriche di vari tessuti. Gli studi effettuati per chiarire questa relazione furono alla base di ogni altra ricerca o misurazione, senza la conoscenza delle proprietà elettriche intrinseche dei tessuti biologici qualsiasi dato ottenuto non potrebbe essere analizzato ed interpretato con successo.

In letteratura molti sono gli articoli che si pongono come obbiettivo la caratterizzazione dei tessuti in frequenze che variano generalmente da 10 Hz fino a 20 GHz, ad esempio: Foster et al. nel 1979 riportarono modelli di descrizione per tessuti cerebrali tra 0,01-10 GHz [32], nel 1980 lo stesso Foster in collaborazione con il dott. Schepps, pubblicarono la caratterizzazione di tessuti tumorali [33] infine, nel 1985, Hurt, pubblico un'analisi completa sul comportamento dielettrico di tessuti muscolari nel range di frequenze 10 Hz - 10 GHz. Per analizzare la risposta elettrica di ogni tessuto, data la loro vastità ed eterogeneità, si adottò un approccio di tipo macroscopico atto a capire in modo generale le relative caratteristiche. Nonostante ciò, le proprietà elettriche dipendono fortemente da diversi fattori come: l'orientamento delle fibre rispetto al campo elettrico applicato (anisotropia), la frequenza di analisi, a causa del comportamento dielettrico non ideale, e, talvolta, sono spazio e tempo dipendenti. Nonostante la struttura dei tessuti sia formata da diversi componenti con caratteristiche differenti, per poter categorizzarli in modo generale è bene suddividerli in due macrocategorie: conduttori, i cui elettroni sono liberi di muoversi finché il campo generato all'interno del materiale non risulta zero, ed isolanti dove le cariche sono invece fisse.

Due indici principali permettono di descrivere questi comportamenti: la permittività ε , capacità di immagazzinare energia elettrica e la conduttività σ , la capacità di trasporto di carica. Queste caratteristiche si presentano contemporaneamente nella maggior parte delle cellule biologiche che offrono differenti comportamenti al variare della frequenza utilizzata per analizzarle. A basse frequenze (1-5 kHz) l'impedenza è composta quasi totalmente dal contributo offerto dalla parte di liquido extracellulare, questo perché le membrane a doppio strato fosfolipidico, comportandosi come condensatori, fungono da

barriere, non permettendo alla corrente di penetrare nella cellula. Nel monitoraggio di colture cellulari l'analisi in bassa frequenza viene utilizzata per indagare il livello di adesione tra cellule. Ad alte frequenze (100-500 kHz), la carica e la scarica delle membrane avviene molto rapidamente, permettendo alla corrente elettrica di bypassare la membrana cellulare permeando anche il nucleo delle cellule, si ottiene così un valore di impedenza composto dalla somma dei comportamenti di: tessuti, liquidi intracellulari e liquidi extracellulari (figura 3.1). L'analisi in alta frequenza è spesso utilizzata per valutare lo stato di crescita e sviluppo di cellule. La stima dei vari indici citati nel corso di questo elaborato, BTW, ICW, ECW, FM o FMM, è possibile ottenerla tramite la combinazione delle misurazioni ad alta, media e a bassa frequenza.



Figura 3.1

Comportamento del campo elettrico ad alta e bassa frequenza in tessuti biologici Si può notare come le linee del campo elettrico a basse frequenze vengano schermati dalla doppia membrana fosfolipidica che ha un comportamento tipico di un condensatore. Ad alte frequenze questo comportamento viene eluso [14].

La prima e più semplice semplificazione della composizione corporea tra FM e FFM fu ideata a partire dall'analisi delle caratteristiche elettriche dei due tessuti; si verificò che i tessuti magri presentavano una conducibilità elettrica maggiore rispetto a quelli grassi. Questa peculiarità è motivata dalla maggiore presenza nei tessuti magri di sostanze come acqua ed elettroliti, considerati meno resistivi rispetto alle cellule adipose; ne deriva quindi che una maggiore conducibilità elettrica di un corpo è sintomo della maggiore presenza di sostanze ioniche, al contrario, un'elevata presenza di grasso impedisce il passaggio di corrente elettrica aumentando la resistenza dell'oggetto in analisi, questo perché si tratta di un tessuto povero d'acqua (5-10%) [34]. È possibile verificare che per frequenze nel range da 100 Hz a 100kHz la maggior parte dei tessuti isotropi non mostrano un comportamento dipendente dalla frequenza. Al fine di fornire una stima delle proprietà di alcuni organi e tessuti umani possiamo affermare che il sangue e il tessuto cerebrale sono buoni conduttori, tessuto polmonare, pelle, grasso e tessuto osseo sono cattivi conduttori, infine, nel mezzo possiamo trovare milza, tessuto muscolare e fegato.

Per esporre le principali caratteristiche dei tessuti ossei offerte in letteratura, è necessario, data la forte anisotropia, suddividere la trattazione nelle due direzioni: longitudinale (figura 3.2) e trasversale (figura 3.3). Si può notare come l'andamento della conduttività al variare delle frequenze sia simile in entrambe ma, il valore assoluto della misura in direzione longitudinale, sia circa cinque volte maggiore rispetto a quello trasversale. Non vengono riportati i grafici di permettività per la scarsa rilevanza offerta da questa tipologia di tessuti ove è presente in minima parte questo comportamento, non notando quindi differenze sostanziali nelle due direzioni di analisi della permittività.



Figura 3.2 Conduttività elettrica di tessuti ossei nel piano longitudinale [34]

Figura 3.3 Conduttività elettrica di tessuti ossei nel piano trasversale [34]

I dati riportati nelle figure 3.2 e 3.3, sono frutto di elaborati disponibili in letteratura le cui fonti sono riportate nella legenda dei grafici e, poiché il nostro scopo è quello di ottenere una caratterizzazione qualitativa, sono state addensate misurazioni effettuate in tempi diversi, su campioni della medesima tipologia ma di diversa provenienza, con metodologie differenti, sia a due che a quattro elettrodi, e da specialisti differenti.

Analizzando ora il tessuto tumorale, definito come un tessuto maligno proliferante risultato da mutazioni geniche, esso presenta caratteristiche elettriche che si discostano molto dalla maggioranza dei tessuti presenti nel corpo umano permettendo una facile individuazione della massa maligna. Lo studio condotto da Smith et al. nel 1986 [35] dimostrò che la conduttività di questi tessuti fosse circa sette volte superiore rispetto a quelli sani e la permittività superiore di circa quattro volte. Nonostante ciò, non è possibile generalizzare le proprie caratteristiche poiché i tumori sono di natura spesso differente ma, è possibile affermare che quest'ultime sono strettamente legate alla dimensione e allo stato di sviluppo della massa.

In ultimo, la caratterizzazione del tessuto cutaneo si è dimostrata di enorme importanza poiché essendo l'ultimo strato conduttivo che rimane a contatto con i sensori, il proprio comportamento si riflette su tutte le tipologie di misurazioni biomediche. La pelle è un tessuto molto disomogeneo in struttura e in proprietà elettriche, esso è composto da tre strati principali: l'epidermide, il derma e ipodermide. L'ipodermide è lo strato più inferiore che permette il fissaggio della cute agli strati inferiori come muscoli e ossa. Proseguendo verso l'esterno si presenta il derma, zona di tessuto connettivo molto denso, altamente vascolarizzato e ricco di innervazioni che conferisce elasticità e struttura alla struttura. In conclusione, è presente l'epidermide, lo strato più esterno dei tre e di maggiore interesse in questo campo di ricerca. Esso presenta uno spessore che varia dai 0,05 mm in zone come le palpebre, giunge a 1,5 mm nei palmi delle mani o piante dei piedi sino ad arrivare alle zone più spesse come quelle della nuca ove lo strato giunge anche a 4 mm. A sua volta, esso è composto da diversi layer differenti in struttura e composizione ma si può affermare che, ciò che influenza maggiormente lo stato dielettrico totale è quello caratteristico della cute, o strato corneo, l'ultima superficie della pelle di circa 20 µm che effettivamente entra in contatto con l'aria o gli elettrodi. La pelle è uno dei tessuti più resistivi dell'intero corpo umano grazie

all'elevato contributo di resistenza in questo strato, esso funge da vera e propria barriera dall'ambiente esterno [34].

Considerando che a basse frequenze (<10 kHz) la componente dello strato corneo è quasi prettamente resistiva, si può affermare che l'andamento dell'impedenza totale della pelle è composto quasi totalmente da essa (50%) [36]. Ad alte frequenze (100 kHz) invece il contributo dello strato corneo scende drasticamente fino ad arrivare ad un 10% del totale [37] come mostrato in figura 3.4 e figura 3.5.



Figura 3.4 Grafico della conduttività

pelle intatta per valutare la dominanza dello strato corneo (rombi) e pelle con strato corneo rimosso (quadrati) [34]



Figura 3.5 Grafico della permittività

pelle intatta per valutare la dominanza dello strato corneo (rombi) e pelle con strato corneo rimosso (quadrati) [34]

3b. Modelli elettrici equivalenti di semplificazione

Per lo studio e la caratterizzazione di componenti biologici è necessario effettuare delle semplificazioni atte a poter descrivere in modo chiaro i comportamenti elettrici ottenuti empiricamente. Molte di queste sono state progettate e sviluppate proprio sull'analisi di database di dati inerenti a misurazioni elettriche su vari tessuti per essere ricondotti a circuiti ideali composti da oggetti riconosciuti. Il primo e più immediato esempio è quello della semplificazione del corpo umano come una serie di resistenze collegate in serie o in parallelo a seconda dei siti di misurazione. Lo studio pratico, a seguito dell'interazione del un'energia nota rende tessuto con quindi possibile un'interpretazione generale del comportamento elettrico come somma di oggetti offerti dalla teoria dei circuiti come la resistenza (R), il condensatore (C) e l'induttore (L), combinati in reti elettriche. Le equazioni empiriche permettono di passare da una visione generale ad una più precisa, permettendo la valutazione dei valori di questi oggetti con i quali è possibile ottenere una descrizione completa della risposta elettrica di ogni elemento; dalla caratterizzazione dei singoli oggetti è possibile ricavare gli indici utili alla clinica del paziente.

Proprio da dati empirici, nel 1940 Cole formulò un'equazione per descrivere e graficare il comportamento dell'impedenza, mettendola in relazione con le resistenze calcolate ad alte e a basse frequenze:

$$Z = R + (R_0 - R_{\infty}) / [1 + (j\omega/\omega_0)^{\alpha}]$$
(11)

Ove $\omega_0 = 1/T_0 \text{ con } T_0$ periodo dell'onda e α è una costante compresa tra 0 e 1.

Questa tipologia di formule empiriche viene utilizzata per rappresentare i vari grafici utili all'analisi e al confronto; uno questi, chiamata di Cole-Cole o di Nyquist, grafica la parte immaginaria (Im) rispetto a quella reale (Re) dell'impedenza, per offrire un metodo grafico di rappresentazione. Come affermato poco fa, la formulazione di queste equazioni è possibile a partire da dati ottenuti e da un modello elettrico di riferimento. La decisione di quale modello sia più pertinente all'analisi è affidata all'intuizione e alla conoscenza del ricercatore che dovrà basare la sua scelta sulla tipologia di tessuto, grado di precisione necessaria e suggerimenti offerti dalla letteratura. Per una trattazione più precisa è possibile considerare anche l'effetto di polarizzazione dell'elettrodo tramite quella che dal 1899 viene chiamata impedenza di Warburg Z_w, a cui si rimanda all'opera di Christopher M. A. Brett per una trattazione più precisa [38].

Tra il 1868 e il 1902, Bernstein teorizzò che la regione interna delle cellule fosse composta da elettroliti e che la membrana fosse permeabile agli ioni; in questo periodo la membrana cellulare veniva considerata l'unica parte resistiva della cellula.

Tra il 1910 e il 1913 fu pubblicata l'opera di Hober nella quale venivano esposti i risultati riguardanti la caratterizzazione elettrica delle cellule del sangue, riscontrando una sostanziale caduta di impedenza all'aumentare della frequenza (da circa 1000 Ω cm a circa 200 Ω cm). In seguito, vennero condotti studi sulle stesse cellule private della membrana e si verificò che questa dipendenza dalla frequenza non si manifestava, ottenendo valori di resistività lineari nel campo di lavoro. Si iniziò così a delineare la necessità di definire circuiti equivalenti che descrivessero fedelmente questa tipologia di comportamento.

Anni prima, nel 1907, Lapicque sviluppò un circuito equivalente a tre componenti (combinazione di resistenze e capacità) (figura 3.6) per modellizzare l'eccitazione della membrana di cellule nervose [39]. Solo anni dopo questo modello diventò la base per quello che oggi riteniamo il circuito più completo (figura 3.8); l'idea di Lapicque venne modificata non nella sostanza, ma nell'idea di associare i vari componenti elettrici alle equivalenti strutture biologiche



Figura 3.6 Circuito elettrico equivalente con resistenze e capacità [39]

Tramite gli esperimenti effettuati nel 1921 da Philippson et al. su cellule sanguigne e cellule del fegato, si poté affermare che in questo modello i valori di R_m e C_m rappresentavano il comportamento della membrana, R_i invece rappresentava la resistenza del fluido esterno alla cellula. A basse frequenze presenta una resistenza totale pari alla somma di R_i e R_m , ad alte frequenze si ottiene una resistenza totale pari a R_i poiché il condensatore presenta un comportamento paragonabile a quello di un cortocircuito che annulla il contributo di R_m al valore totale dell'impedenza. Philippson calcolò il valore di C_m ad ogni frequenza e riscontrò una progressiva decrescita all'aumentare della frequenza *f*, a partire da essa espresse inoltre l'impedenza di polarizzazione secondo le leggi:

$$C_{\rm m} = C_1 f^{1-\alpha} \tag{12}$$

$$Z_{pol} = -(j) / 2\pi C_1 f^{\alpha}$$
 (13)

Pochi anni dopo, nel 1925, Fricke and Morse analizzarono la stessa tipologia di cellule sanguigne e teorizzarono un nuovo modello elettrico equivalente per cellule sferiche in liquido extracellulare. Esso presentava una sostanziale differenza poiché attribuiva un valore di resistenza al fluido extracellulare (R₁), al fluido intracellulare (R₂) ed una capacità di membrana (C) non dipendente dalla frequenza [39].



Figura 3.7 Circuito elettrico equivalente per cellule sferiche sospese in ambiente acquoso [39]

In seguito allo studio e all'elaborazione dei lavori citati precedentemente, nel 1947 fu sviluppato quello che ad oggi, viene considerato il modello di circuito equivalente più completo e preciso per lo studio di cellule biologiche, caratterizzato anche dalla relazione che intercorre tra il sensore di misura ed i fluidi biologici. Il circuito definito di Randles (figura 3.8), chiamato così dall'omonimo ideatore, riassume tutte le

semplificazioni elettriche necessarie per rappresentare i meccanismi che avvengono durante la misurazione d'impedenza su una cellula, integrando nello schema l'impedenza di Warburg, atta ad esemplificare l'interferenza di contatto elettrolitaelettrodo, generata da un trasferimento di materia dalla soluzione alla superficie dell'elettrodo.



Figura 3.8 Circuito di Randles [40]

In questo schema circuitale viene rappresentato il comportamento di un elettrodo a contatto con una soluzione elettrolitica tipica delle cellule: R_s rappresenta la resistenza della soluzione elettrolitica, C_{dl} rappresenta la capacità del doppio strato della membrana ed infine, la resistenza R_{ct} che rappresenta la resistenza della reazione faradica, viene posta in serie all'impedenza di Warburg che esprime la resistenza di diffusione [40].

4- CARATTERIZZAZIONE DI UN ANALIZZATORE DI IMPEDENZA

4a. Setup hardware di misura (MFIA (Zurich Instrument))

Il dispositivo MFIA ideato e sviluppato dall'azienda svizzera Zurich Instrument è un analizzatore di impedenza digitale e un misuratore LCR di precisione che opera nella gamma di frequenza da 1 mHz a 500 kHz, espandibile fino a 5 MHz tramite un aggiornamento del software. Esso permette di ottenere precise misurazioni d'impedenza valutando inoltre i valori di induttanze, capacità e resistenze tramite i molteplici ingressi disponibili nel pannello anteriore. Esso dispone di: un ingresso di segnale in corrente, un ingresso di tensione differenziale, un'uscita di segnale differenziale, due ingressi ausiliari utilizzabili come ingressi di riferimento e quattro uscite ausiliarie; sia gli ingressi che le uscite è possibile utilizzare in modalità 'single-ended' o in modalità differenziale per esperimenti che necessitano di un elevato SNR (rapporto segnale-rumore). Il pannello posteriore è progettato per offrire la possibilità di connettere due ingressi di trigger, due uscite di trigger ed un ingresso ed un'uscita per la sincronizzazione del clock (intervallo di tempo tra fronti di due impulsi consecutivi) a 10 MHz.



Figura 4.1 Pannello anteriore e posteriore dell'analizzatore d'impedenza MFIA

(www.zhinst.com, Analizzatore impedenza 500 kHz / 5 MHz)

Lo strumento fornisce la possibilità di sovracampionamento analogico-digitale per una ricostruzione esatta e per ottenere un'elevata precisione durante l'utilizzo della funzione Scope, la quale permette una visualizzazione, quasi analogica, del segnale in tempo reale. Oltre a questa funzione è possibile, tramite il software di interfaccia grafica LabOne, inserire svariati indici necessari ad ottenere una migliore compensazione delle non idealità del misurando o della catena di misura e per la quantificazione degli stessi.

Offrendo la possibilità di costruire il modello di circuito equivalente più adatto alla misurazione, è possibile gestire gli aumenti estremi del valore d'impedenza ad alte frequenze causate dal comportamento induttivo dei cavi, inoltre, varia autonomamente l'intensità della corrente di prova utilizzando quella più corretta in base al valore del misurando.

Il software LabOne include la possibilità, tramite un'interfaccia intuitiva, di usufruire delle più comuni tecniche di rappresentazione grafica. Sono disponibili all'utilizzo dell'utente i diagrammi di Nyquist per visualizzare la parte reale rispetto a quella immaginaria, la funzione Scope per graficare il modulo d'impedenza e della fase in relazione al tempo, la funzione Sweeper per rappresentare i diagrammi di Bode ed ottenere i grafici dello sfasamento e dell'ampiezza dell'output, infine, è possibile ottenere lo spettro della trasformata di Fourier per l'analisi di filtri e amplificatori. Per tutte queste funzioni è possibile scaricare i grafici o i dati in vari formati ed estensioni per una successiva elaborazione ed estrapolazione di indici rilevanti. Tramite il comando Lock-in mostrato in figura 4.2 è possibile personalizzare l'architettura e la configurazione su cui si basa lo strumento per ottenere un valore di misurazione. Questa funzione permette di riconoscere e modificare i vari passaggi della catena di demodulazione che intercorre tra il segnale di ingresso e quello di uscita. Si possono notare i distinti blocchi e come questi possono essere modificati dall'utente, ad esempio: l'accoppiamento AC ottenibile tramite la presenza opzionale di un condensatore, il fattore di scala modulabile, il variatore di fase, il filtro passabasso con il quale amplificare il segnale e tagliare le altre componenti superiori alla frequenza desiderata, il filtro sinc che, come detto precedentemente, permette di attenuare determinate interferenze ed, infine, è possibile regolare una tensione di offset se necessario.



Figura 4.2 Funzione Lock-in disponibile tramite il software LabOne

4b. Calibrazione e bontà di misura tramite circuiti di prova

Nella procedura utilizzata per eseguire questa tipologia di caratterizzazione sono stati analizzati in frequenza due circuiti elettrici di precisione. Essa si compone di dieci misurazioni ripetute ottenute con l'utilizzo dell'impedenzimetro MFIA con rilevazione a due morsetti, in un range di frequenze, detto sweep, che varia da 0,2 Hz a 510 kHz, per un totale di cento frequenze rilevate, distanziate l'una dall'altra secondo uno schema logaritmico. I risultati di questa analisi sono stati elaborati con codici MatLab per ottenere dati di ripetibilità e affidabilità e, in seguito, sono stati confrontati con i grafici forniti dall'azienda sviluppatrice Zurich Instrument (figura 4.3).



Figura 4.3 Grafici di accuratezza dichiarati da Zurich Instrument per modulo e fase nel range di frequenze e valori d'impedenza

(www.zhinst.com, Dettagli e specifiche tecniche)

Questi grafici rappresentano i valori di accuratezza dello strumento per determinati valori di frequenza ed impedenza. I dati per il modulo forniti dall'azienda, validi entro i limiti operativi dello strumento stesso, sono rappresentati in aree di diverso colore: l'area bianca e quella azzurra chiara descrivono un errore compreso tra 0,05% e 0,1% per misure di impedenze tra 1 Ω e 10 M Ω in un range di frequenze da 1 mHz fino a 500

kHz (con delle limitazioni verso le frequenze più alte), negli intervalli successivi, ovvero le aree da azzurro a blu, corrispondono ad un errore dello 1% o 10% e oltre.

Si può notare come la misura perde accuratezza per valori del modulo d'impedenza minori di 50 m Ω o superiori ai 90 G Ω analizzati in frequenze minori di 100 mHz o maggiori di 1 kHz, con relative zone intermedie e zone limite.

Per analizzare la bontà di misura è necessario avere un quadro completo sulla tipologia di errori che si possono riscontrare, essi si possono distinguere in rumori, legati alla fisica del moto degli elettroni, e disturbi dovuti ad accoppiamenti elettromagnetici o condotti da altri dispositivi. I primi sono causati dalla insufficiente progettazione elettronica e sono di facile manipolazione tramite filtraggi; i secondi sono più complessi ed è necessario suddividerli in: disturbi condotti (correnti che scorrono in conduttori come alimentatori e collegamenti di massa), accoppiamenti induttivi (causati da campi elettrici variabili che inducono correnti), questi ultimi tipici principalmente della trasmissione via cavo, ed infine, accoppiamenti per radiazione (generati dalla propagazione di campi elettromagnetici) caratteristici dei circuiti di dimensioni elevate. Inoltre, misurare impedenze elevate a bassa frequenza può risultare particolarmente impegnativo quando quest'ultima si avvicina alla frequenza di linea.

Per ovviare a queste tipologie di interferenza d'onda è possibile applicare una schermatura del campione attraverso quella che viene definita gabbia di Faraday, la quale permette di isolare il sito di misurazione dai disturbi di strumentazioni esterne e anche della stessa (gli apparecchi di uso comune funzionano ad una frequenza di 50 Hz). Questa tipologia di gabbia è composta da un contenitore in materiale conduttore, spesso metallico, in grado di isolare l'ambiente interno da quello esterno. Il principio che descrive questo comportamento, noto come teorema di Gauss, descrive la distribuzione di carica elettrica in un conduttore [41]. Oltre a ciò, per diminuire i disturbi esterni ed aumentare l'affidabilità, è bene spegnere o allontanare i dispositivi elettronici limitrofi, allontanare possibili fonti di calore o apparecchiature che modifichino la stabilità dell'ambiente, azzerare l'interferenza di modo comune controllando che il riferimento di massa di entrambi gli elettrodi sia il medesimo,

utilizzare metodi di post-elaborazione dati tramite un filtro sinc ed infine utilizzare l'apparecchio in modalità di alimentazione a batteria.

Durante la procedura di caratterizzazione è quindi necessario mantenere le condizioni operative il più possibile invariate; oltre agli accorgimenti appena citati si è utilizzato del nastro adesivo per limitare il movimento involontario dei cavi e della scheda di calibrazione e si sono scartate le prime tre e le ultime tre misure poiché l'osservatore, avvicinandosi o allontanandosi, potrebbe aver creato disturbi d'interferenza.

Una dimostrazione dell'efficacia di queste metodologie di schermatura e di salvaguardia del misurando dalle interferenze, ci è fornita dall'analisi dei valori ottenuti tramite due caratterizzazioni di una stessa resistenza da 1 M Ω sia non schermata sia schermata da una semplice gabbia di Faraday in materiale metallico. Un accorgimento necessario durante l'utilizzo di questa tipologia di schermatura è che i morsetti dell'analizzatore e i terminali della resistenza non entrino in contatto con la gabbia poiché, non rispettando le condizioni di validità della legge di Gauss, essa trasmetterebbe all'interno le interferenze esterne.



Fig. 4.4a



Fig. 4.4b

Figura 4.4

Rappresentazione dell'analisi di impedenza di una resistenza del valore di 1 $M\Omega$ in condizioni di schermatura tramite una gabbia faradica (b) e di non schermatura (a).

Il grafico mostrato in figura 4.4b presenta un'elevata accuratezza, come dichiarato dal tracciato della deviazione standard pressoché nullo, se non a frequenze superiori ai 10⁴ Hz, alle quali diverge per l'effetto conduttivo parassita causato dai cavi.

Anche per il grafico di modulo e fase è possibile verificare una continuità ed affidabilità di misura poiché non presenta disomogeneità. Queste invece, sono presenti nei tracciati della figura 4.4a ove si notano picchi a 50 Hz, frequenza tipica utilizzata dai principali strumenti di uso comune.

Si può concludere quindi che la resistenza non schermata è soggetta ad interferenze di rete che causano forti scompensi nell'accuratezza dello strumento alle corrispondenti frequenze, al contrario, la resistenza schermata viene protetta con successo dalla gabbia faradica.

I circuiti ad alta precisione utilizzati, sono costruiti con le più avanzate tecnologie e sono in grado di presentare un'idealità intrinseca quasi perfetta rendendo possibile l'identificazione dei disturbi o degli errori causati dal resto della strumentazione o da agenti esterni. Essi sono stati forniti nel corredo di calibrazione del dispositivo PalmSens3, un potenziostato, galvanostato e analizzatore di impedenza progettato e realizzato dall'azienda PalmSens - Compact Electrochemical Interface. Quelli utilizzati, detti circuiti prova (in inglese dummy cell), sono circuiti stampati che modellizzano con

elevata precisione una resistenza da 10 k Ω ed un circuito di Randles con R_s di 560 Ω , R_{ct} di 10 k Ω ed una capacità C_{dl} di 33 nF (figura 4.5); la Z_w non è considerata in questa rappresentazione perché in questa simulazione non sono presenti fluidi elettrolitici sulla superficie di contatto con l'elettrodo.



Figura 4.5 PalmSens Dummy Cell Circuito stampato reperibile nel corredo di calibrazione del dispositivo PalmSens3

Per ottenere un'idea grafica chiara vengono riportati nelle figure 4.6a e 4.6b i grafici della resistenza da 10 k Ω e del circuito di Randles ottenuti tramite le misurazioni effettuate con le metodologie sopracitate. I grafici e gli indici di accuratezza sono stati ottenuti tramite elaborazione con codici Matlab.

I quattro grafici di modulo e fase rappresentano tramite la linea blu l'andamento medio delle dieci misure contenuto nelle due linee rosse che rappresentano lo scostamento quadratico medio. Nella legenda, vengono espressi i valori massimi della deviazione standard (per il modulo la percentuale è espressa in relazione al valore misurato punto per punto) che sono supportati dai grafici in verde che rappresentano l'andamento della deviazione standard al variare delle frequenze, calcolati in percentuale per il modulo ed in valore assoluto (gradi) per la fase.

Nella figura 4.6a, che rappresenta il singolo resistore da 10 k Ω , si nota come il valore di entrambe le componenti ad alte frequenze tenda velocemente a zero, questo è sintomo di un effetto capacitivo legato principalmente alle tecniche di produzione della resistenza stessa. Per rappresentarlo in forma circuitale è possibile aggiungere una capacità in parallelo al resistore; questa fa tendere il modulo a zero perché ad alte frequenze si

comporta come un cortocircuito che idealmente non ha resistenza, per la fase invece ci si aspetta che causi uno sfasamento finale di 90°.

Nella figura 4.6b, la quale rappresenta il comportamento in frequenza del circuito di Randles, è possibile visualizzare quanto ci si aspettava: a basse frequenze il condensatore C_{dl} non offre contributo poiché si comporta come circuito aperto, si ottiene quindi che il valore d'impedenza in queste zone sia la somma delle due resistenze restanti che effettivamente è circa di 10560 Ω , ad alte frequenze il condensatore bypassa la resistenza R_{ct} (=10 k Ω) tramite un cortocircuito di resistenza nulla, rimane così il solo contributo della resistenza R_s (=560 Ω). Nelle frequenze intermedie è possibile apprezzare il processo di carica del condensatore che linearmente si trasforma da circuito aperto a cortocircuito, causando uno sfasamento massimo di 60°.

Si nota inoltre che i valori delle deviazioni standard tendono a zero per frequenze medie e medio-alte, a basse frequenze invece sono di molto maggiori, ipotizzando che siano generati da disturbi esterni presenti nella stanza oppure dall'analizzatore stesso e propagati tramite i cavi.

I risultati ottenuti migliorano notevolmente quanto dichiarato dalla casa produttrice quindi, si può affermare che la qualità della misura sia sufficientemente buona e che le procedure di misurazione, di calibrazione dello strumento, di modellizzazione del misurando, di compensazione della catena di misura e di schermatura siano state effettuate con successo. In seguito alla valutazione di questi fattori e alla successiva compensazione generata dallo strumento, è possibile intraprendere la caratterizzazione in frequenza di resistenze, condensatori e sensori di temperatura o di livello, supponendo che le ulteriori non idealità riscontrate nelle misurazioni siano attribuibili all'oggetto di misura e non alla catena di misurazione.



Fig. 4.6b

Figura 4.6



4c. Caratterizzazione in frequenza di resistenze a valore noto per confronto con analizzatore PalmSens3

Verificati i metodi di misura e il grado di precisione ed accuratezza dello strumento, si è potuto caratterizzare in frequenza diverse resistenze a valore noto. La procedura di misurazione utilizzata è la medesima delle procedure di calibrazione, dieci sweep in un range da 0.2 Hz a 510 kHz.

Le resistenze considerate sono principalmente di tre valori differenti: 18 Ω , 560 Ω e 1M Ω . I grafici di questi sono stati poi confrontati con quelli ottenuti dal misuratore

d'impedenza PalmSens3, precedentemente utilizzato per le attività di laboratorio, per verificare i vantaggi e gli svantaggi di entrambe le strumentazioni. L'ambiente operativo, uguale per tutte le misurazioni, è stato ottimizzato e reso il più stabile possibile secondo i criteri esposti nel paragrafo 4b ad eccezione della gabbia faradica, non utilizzata per studiare l'influenza della frequenza di rete per vari valori di resistenza; per entrambe le caratterizzazioni sono stati utilizzati i medesimi resistori e si è optato per l'utilizzo di una misurazione a due morsetti. Per limiti fisici di connessione al dispositivo non è stato possibile utilizzare gli stessi cavi, si sono utilizzati quindi quelli forniti nel corredo di ciascuno strumento che però non combaciano per diametro e per lunghezza. Questa differenza non preclude comunque la possibilità di confronto poiché si prende in considerazione la catena di misurazione nella sua totalità, comprensiva degli errori e della non idealità causati dai cavi.

Considerando la caratterizzazione della resistenza da 18 Ω con l'impedenzimetro MFIA, figura 4.7a, si può affermare che i valori delle deviazioni standard di modulo e fase sono sufficientemente ridotti e rientrano abbondantemente nei valori forniti dalle tabelle in figura 4.3. Nonostante dalla teoria ci si aspetti di ottenere un grafico del modulo costante per tutto il range di lavoro, con valori che approssimano quello nominale ed un grafico della fase nullo, dalla pratica invece, si è ottenuto un andamento differente quando le frequenze di analisi aumentano. È possibile riconoscere due zone in cui il la risposta in frequenza varia, prima e dopo i 10³ Hz: prima di questa frequenza il grafico ottenuto è quello tipico dei resistori ideali e non presenta picchi d'interferenza o importanti scostamenti (detti drift) dal valore nominale, stabile ad un valore leggermente superiore ai 18 Ω ; superata questa soglia, sia impedenza che fase, tendono a divergere. Siccome i valori di deviazione standard restano pressoché immutati, si è ipotizzato che questa non idealità sia causata da un comportamento induttivo dei cavi ad alte frequenze, il quale comporta uno sfasamento massimo di ± 90° (corrente in anticipo rispetto alla tensione) ed un importante aumento del modulo.

Confrontando ora le figure 4.7a e 4.7b, si nota come da quest'ultima, ottenuta con l'utilizzo dell'analizzatore PalmSens3, si ottengano valori di deviazione standard minori rispetto a quelli ottenuti con impedenzimetro MFIA. Mostra inoltre, un comportamento ideale di una resistenza caratterizzata da un drift per frequenze minori di 1000 Hz e, ad

alte frequenze, presenta una non idealità differente rispetto alla precedente. Questa non segue uno schema attribuibile né ad un condensatore parassita, né ad un induttore parassita; perciò, è stato ipotizzato che rappresenta il comportamento di una resistenza in tutto il campo di lavoro ma che, ad alte frequenze, l'analizzatore presenta dei limiti nella misurazione; affermazione motivata dall'aumento del valore degli indici di ripetibilità mostrati nei grafici in verde.



Fig. 4.7b

Figura 4.7

Grafici di modulo, fase e deviazione standard di una resistenza del valore di 18 Ω ottenuti tramite MFIA (a) e PalmSens3 (b)

Si analizzano ora i diagrammi di Bode di modulo e fase ed i relativi grafici della deviazione standard per una resistenza del valore di 560 Ω rappresentati nelle figure 4.8a e 4.8b.

Nel grafico del modulo d'impedenza della prima figura si può notare un drift negativo di circa 3 Ω non presente nella seconda caratterizzazione. Nonostante il grafico del modulo presenti una ricaduta per frequenze che tendono al limite superiore del campo di lavoro (quindi non è possibile analizzare il successivo andamento), dal grafico della fase si evince che l'MFIA soffra dell'effetto di una sovrapposizione capacitiva, causata dalla tecnologia di fabbricazione della resistenza, oppure induttiva, causata dal comportamento che i cavi presentano ad alte frequenze, in linea con quanto ipotizzato durante la caratterizzazione della resistenza da 18 Ω e 10 k Ω effettuata precedentemente.

Si può notare inoltre come i grafici della deviazione standard ottenuti tramite MFIA seguano un andamento costante ma siano in valore più elevati rispetto a quelli caratteristici del PalmSens3, i quali rimangono costanti e prossimi allo zero per poi divergere a frequenze superiori ai 10⁴ Hz. In generale, i valori massimi per modulo e fase rappresentati in legenda, dimostrano una maggiore accuratezza della prima strumentazione rispetto alla seconda.





Fig. 4.8a



Fig. 4.8b

Figura 4.8

Grafici di modulo, fase e deviazione standard di una resistenza del valore di 560 Ω ottenuti tramite MFIA (a) e PalmSens3 (b)

Si è caratterizzato infine un resistore del valore di 1 MΩ per testare i limiti entro i quali l'azienda Zurich Instrument assicura una percentuale di accuratezza minore del 10% per il modulo e di oltre 100 mdeg per la fase. In corrispondenza della frequenza a 50 Hz, stabilita essere l'inferenza di rete che causa maggiori problemi, otteniamo per l'MFIA una deviazione standard dello 0,1% e per la fase di circa 5 deg. Come dimostrato dalla figura 4.4b questi valori possono diminuire fino a raggiungere lo 0,017% e i 1.8 deg, se viene utilizzata la schermatura faradica. L'accuratezza per il modulo è stata soddisfatta ed ha superato le aspettative dichiarate, purtroppo, anche le condizioni sulla fase sono state rispettate ma non sono state migliorate a causa dell'interferenza. Anche in questa caratterizzazione, ad elevate frequenze predomina il comportamento capacitivo legato alla fabbricazione dei componenti interni della resistenza.

In figura 4.9b sono riportati i grafici relativi all'analizzatore PalmSens3. In accordo con le altre caratterizzazioni, esso presenta un elevato indice di ripetibilità delle misure a frequenze minori ma, a frequenze più elevate, si nota una componente capacitiva in parallelo con il resistore, paragonabile a quella dell'MFIA, combinata con una limitazione strumentale nella ripetibilità delle misurazioni. Questa decrescita delle prestazioni può essere motivata dal fatto che questo analizzatore utilizza la stessa intensità di corrente di prova, fornita dall'utente, per tutte le frequenze; l'MFIA è invece fornito di un sistema di autocalibrazione che permette di utilizzare la corrente più adatta alla misurazione, proporzionale al valore di impedenza e alla frequenza di analisi.



Fig. 4.9b

Figura 4.9



Dal confronto delle caratterizzazioni dei due strumenti di misura, effettuate su una specifica tipologia di resistori, è possibile affermare che generalmente l'impedenzimetro MFIA presenta un miglior comportamento rispetto al PalmSens3, soprattutto ad alte frequenze, mantenendo indici di ripetibilità confortanti e introducendo "non idealità ideali", ossia comportamenti non tipici del misurando ma che possono essere facilmente attribuite ad oggetti comuni nell'elettronica e bilanciate grazie alle diverse funzioni presenti nel software. Questo strumento risulta inoltre, molto sensibile alle interferenze di rete per valori di impedenza elevati, che però, non si trasmettono al misurando attraverso i cavi (esterni alla gabbia di Faraday).

L'analizzatore di impedenza PalmSens3 si dimostra meno soggetto ad interferenze e, se si prende in considerazione impedenze di valore relativamente contenuto, in un campo di lavoro inferiore ai 10⁴ Hz, risulta più attendibile rispetto all'altro impedenzimetro. Questo comportamento può essere motivato anche dal fatto che, rispetto all'MFIA, è stato possibile effettuare le misure in modalità a batteria, evitando sovrapposizioni di forme d'onda vicine a quelle utilizzate per l'alimentazione. Per range di frequenze superiori a questa soglia, il dispositivo soffre di limitazioni nella misurazione, scostandosi con un andamento randomico dai valori di riferimento.

In generale si conclude che lo strumento di Zurich Instrument permette, rispetto al secondo, una maggiore personalizzazione dei parametri descrittivi della catena strumento-cavo-sensore ed offre una maggiore autonomia nella calibrazione della metodologia di misura. Per frequenze maggiori dei 10³-10⁴ Hz si suggerisce quindi di utilizzare l'MFIA; per frequenze inferiori entrambi presentano un grado di accuratezza apprezzabile ma, per quest'ultimo strumento, è bene organizzare una schermatura efficace del misurando.

5- ESEMPI DI CARATTERIZZAZIONE DI SENSORI STAMPATI

5a. Sensori di temperatura stampati: metodo di caratterizzazione e risultati

I sensori di temperatura sono strumenti che rilevano e misurano le variazioni di temperatura superficiale di liquidi e solidi. Essi si distinguono in base alla necessità di entrare in contatto o meno con il sito di rilevazione. Le termocoppie o i termometri a resistenza sono quei sensori che necessitano di un contatto diretto per percepire la variazione di temperatura; sensori come i termometri a infrarossi e termocamere a infrarossi vengono definiti sensori di temperatura non a contatto vengono definiti così per la peculiarità di rilevare la misurazione a distanza.

In questo elaborato verranno caratterizzate una semplice resistenza, realizzata in argento, tramite l'utilizzo di stampanti 3D, che hanno la peculiarità di variare le proprie caratteristiche di resistività in modo proporzionale alla variazione della temperatura. Per caratterizzare i sensori di temperatura si è utilizzata una piastra riscaldante alla quale è stata fissata la resistenza tramite del nastro adesivo; la piastra è stata riscaldata da una temperatura di 20°C fino ad una temperatura di 100°C aumentandola, ad intervalli di tempo di cinque minuti, di 10°C per ogni intervallo. Infine, la misurazione d'impedenza è stata valutata tramite l'utilizzo dell'analizzatore MFIA ad una frequenza fissa di valore opzionale.



Figura 5.1 Caratterizzazione di un sensore di temperatura resistivo

In figura 5.1 sono stati riportati i valori d'impedenza misurati ai capi di una resistenza posizionata su una piastra riscaldante. Si nota come a 20°C il valore di resistenza rimane costante ad un valore di 108 Ω ; dopo circa 5 minuti si è aumentata la temperatura della piastra di 10°C; questo procedimento è stato effettuato fino a raggiungere i 100°C corrisposti ad un valore di impedenza di circa 144 Ω . La necessità di un tempo d'attesa tra una variazione e l'altra risulta necessario poiché, come si può notare dall'effetto sul grafico, la temperatura erogata dalla piastra risultava inizialmente più elevata del target per poi assestarsi.

Dai dati ottenuti è possibile notare una variazione totale di circa 36,1 Ω per una variazione di temperatura di 80°C, da questa è possibile calcolare e confrontare le differenze d'impedenza per ogni singolo scalino ottenendo una variazione di circa 4,5 Ω ogni 10°C. È possibile quindi ottenere previsioni delle misure d'impedenza con la teoria della resistività dei metalli in relazione con la temperatura, governata della legge:

$$R_{t} = R_{20} \left[1 + \rho \left(t - 20^{\circ} C \right) + \dots \right]$$
(14)

Ove ρ è il coefficiente termico dell'alluminio di valore 4,1·10⁻³ °C⁻¹, t è la temperatura a cui si indaga la resistenza finale R_t.

I risultati ottenuti dall'equazione 14 sono stati confrontati con quelli ottenuti empiricamente, figura 5.2, per valutare la pertinenza di quest'ultimi. Si conclude che l'andamento dei dati teorici approssimi esattamente l'andamento di quelli empirici, evidenziando i plateaux caratteristici del tempo di attesa e dei picchi di temperatura indesiderati generati dalla piastra.



Figura 5.2 Caratterizzazione di un sensore di temperatura resistivo confrontato con il grafico del modello teorico associato

5b. Sensori di livello per ambito biomedico: metodo di caratterizzazione e risultati

Un sensore di livello è un dispositivo elettronico che misura l'altezza di un materiale tipicamente fluido all'interno di un recipiente. Essi suddividono in sensori di livello a punto, capaci di generare allarmi solo se il fluido supera una determinata soglia, e sensori di livello continui, strumenti più sofisticati che permettono di ottenere una misurazione continua dello stato di livello del fluido. I sensori a misurazione continua sono suddivisi ulteriormente in sensori che necessitano un contatto diretto con il fluido e sensori che sono in grado di rilevare il livello dall'esterno. Quest'ultimi sono spesso utilizzati in ambito biomedico dove è necessario che la strumentazione monitori i liquidi utilizzati senza entrarci in contatto direttamente, per evitare di modificarli o alterarli.

Per ottenere uno strumento che misuri il livello di un fluido senza entrarci in contatto è comune sfruttare le proprietà dielettriche dei materiali presenti all'interno di un condensatore. In questo caso è stato utilizzato come riferimento dielettrico quello dell'aria (ε_0) e come elemento discriminante per le variazioni la costante dielettrica dell'acqua distillata (ε_{H2O}).

Si ipotizza che, con il riempimento progressivo dell'intercapedine del condensatore, la colonna d'aria diminuirà lasciando spazio all'acqua causando un aumento della costante dielettrica totale, motivato dal maggior valore della costante dielettrica di quest'ultima.

Precisamente si è utilizzato un nastro adesivo conduttore, posto esternamente ed in posizione verticale ai lati di un becher da 50 ml. Inoltre, sono state progettate due diverse configurazioni: la prima presenta piste conduttive ravvicinate e parallele l'una all'altra su uno stesso lato, nella seconda le piste sono sempre parallele ma poste ai due lati opposti del recipiente.

Come metodologia di misura si è utilizzata la spettroscopia di impedenza elettrochimica (EIS) supportata dall'analizzatore MFIA. La tipologia misurazione d'impedenza utilizzata per analizzare la soluzione più sensibile è quella a due terminali effettuata in un range da 1-510 kHz, inoltre si è stabilito un procedimento standard: partendo dal contenitore vuoto o meglio, pieno d'aria, si effettuano dieci misurazioni per ogni livello di fluido, aggiungendo di volta in volta 5 ml di acqua distillata tramite una pipetta graduata, fino ad arrivare ad un totale 45 ml.

In figura 5.3 sono riportati i grafici di modulo e fase caratteristici della configurazione a facce adiacenti. L'andamento del modulo per i vari livelli di fluido è quello di un condensatore classico, a basse frequenze presenta un'elevata impedenza che si smorza procedendo verso le alte; anche se con la presenza di un drift, è verificato anche lo sfasamento in ritardo di circa 90° della fase caratterizzato dal fatto che per le frequenze minori lo strumento presenta un'elevata incertezza. Analizzando nuovamente il grafico del modulo si nota come le variazioni di livello del liquido siano correlate ai costanti aumenti del valore d'impedenza; è possibile, inoltre, affermare che l'incertezza resta pressoché immutata in tutto lo spettro e che, a basse frequenze è più marcata la relazione tra valori e altezza del fluido.



Figura 5.3 Spettro in frequenza di un sensore di livello a facce adiacenti con un livello di riempimento a gradini tra 0 ml e 45 ml

Nella figura 5.4 sono graficati i dati caratterizzanti del modello a piste opposte. In linea con le aspettative, i valori del modulo sono di un ordine superiore ai precedenti e che, nonostante ciò, siano differenziati meglio. Questo è causato da un notevole aumento di distanza tra le due facce del condensatore che causa una maggiore presenza di fluido resistivo nell'intercapedine. Anche per questa tipologia di configurazione si riscontrano le principali caratteristiche di un condensatore ma presenta una deviazione standard maggiore, ma, data la maggiore distanza da coprire è più probabile che entrino in gioco forze che influenzano la misura.



Figura 5.4 Spettro in frequenza di un sensore di livello a facce opposte con un livello di riempimento a gradini tra 0 ml e 45 ml

In conclusione, si può trarre che in entrambe le configurazioni si ottiene un comportamento pressoché ideale e rappresentativo in modo qualitativo e quantitativo delle variazioni del livello di liquido presente in un contenitore. Nonostante ciò, per una misurazione a basse frequenze è preferibile la configurazione che presenta le piste conduttive opposte, nonostante presenti indici di incertezza più elevati. Per motivare la presenza di un drift verso l'alto in ogni misurazione della fase, accompagnato talvolta da imprecisioni di misura, a frequenze nell'intorno dei 50 kHz, si ipotizza che siano presenti delle interferenze esterne e che lo strumento ricalcoli i parametri di misurazione per essere più preciso interrompendo così la continuità della misurazione.

L'apparato presenta nel suo complesso buone caratteristiche di sensibilità nonostante la semplicità di realizzazione, permette di non entrare in contatto con il liquido e di monitorare costantemente il suo stato. Purtroppo, effettuando misurazioni con liquidi ionici, si è verificato che questa tipologia di sensore non riesce a seguire il valore del misurando poiché deviata dalla presenza di cariche ioniche nel fluido. Per ottenere un quadro completo e per migliorare le prestazioni rimane comunque necessaria un'ulteriore caratterizzazione con diversi fluidi inerti e ionici a frequenze minori di quelle utilizzate in questo elaborato.

5c. Codici MatLab per visualizzazione ed estrapolazione dati

Si riportano ora i codici Matlab utilizzati per le precedenti caratterizzazioni. L'analizzatore PalmSense3 fornisce i dati in file formato .csv (figura 5.5), l'impedenzimetro MFIA fornisce i dati in file formato .txt (figura 5.6).

	freqHz	negPhase	IdcUA	ZOhm	ZOhm1	ZOhm2	CsF	VarName8
	Number 🔫	Number 🔫	Number 🔫	Number 🔫	Number 🔫	Number 🔻	Number 🔫	Text 🔻
1	File date:	2023-04						
2	Measure	Impedan						
3	Notes:							
4	Date and	2023-04						
5	Fixed at							
6	freq / Hz	neg. Pha	ldc / uA	Z / Ohm	Z' / Ohm	Z'' / Ohm	Cs / F	
7	49382.7	-3.4483	35.2478	19.1038	19.0692	-1.1490	-2.8047	
8	43478.2	-1.3190	35.2478	18.6770	18.6721	-0.4299	-8.5139	
9	38461.5	0.56738	35.2478	18.6197	18.6188	0.18438	2.24422	
10	33898.3	1.70733	35.2478	17.5865	17.5787	0.52397	8.96045	
11	29962.5	3.00543	35.2478	18.0169	17.9921	0.94464	5.62308	
12	26402.6	0.99923	35.2478	18.3799	18.3771	0.32052	1.88064	
13	23255.8	-0.0186	35.2478	18.2339	18.2339	-0.0059	-0.0011	
14	20408.1	0.22064	35.2478	18.2987	18.2986	0.07046	0.00011	
15	18181.8	0.15658	35.2478	18.2108	18.2107	0.04976	0.00017	
16	15873.0	-0.2048	35.2478	18.1859	18.1858	-0.0650	-0.0001	
17	14035.0	-0.0692	35.2478	18.2871	18.2871	-0.0221	-0.0005	
18	12422.3	-0.4985	35.2478	18.3495	18.3488	-0.1596	-8.0246	
19	10989.0	1.15888	35.2478	18.3126	18.3088	0.37037	3.91043	
20	9615.38	-0.5371	333.714	18.6564	18.6556	-0.1749	-9.4636	
21	8510.63	-1.1554	276.951	18.5369	18.5331	-0.3738	-5.0028	
22	7490.63	-0.9996	237.584	18.4646	18.4618	-0.3221	-6.5959	
23	6606.11	-0.8427	209.200	18.4244	18.4224	-0.2709	-8.8908	
24	5847.95	-0.8074	187.227	18.3924	18.3905	-0.2591	-0.0001	
25	5138.08	-0.5550	170.748	18.3796	18.3787	-0.1780	-0.0001	
26	4545.45	-0.5555	157.015	18.3654	18.3646	-0.1780	-0.0001	
27	3996.00	-0.4618	146.944	18.3589	18.3583	-0.1479	-0.0002	
28	3536.69	-0.3640	129.549	18.3512	18.3509	-0.1166	-0.0003	
29	3118.90	-0.2400	116.732	18.3807	18.3806	-0.0769	-0.0006	
30	2751.97	-0.3374	107.576	18.4107	18.4104	-0.1084	-0.0005	
31	2419.84	-0.3930	100.252	18.3799	18.3794	-0.1260	-0.0005	
32	2139.03	-0.3831	91.0973	18.3514	18.3510	-0.1227	-0.0006	
33	1893.49	-0.3788	83.7731	18.3376	18.3372	-0.1212	-0.0006	
34	1661.12	-0.2917	79.1954	18.3288	18.3286	-0.0933	-0.0010	

Figura 5.5

Formato file .csv contenente i dati forniti dal PalmSens3

1	% Module: Sweep, ID: c0p1t6p1cfm0
2	% Devices: DEV6036
3	% Time: 2023/03/30 15:34:28
4	% Impedance 1 Sample Abs(Z), /dev6036/imps/0/sample.AbsZ
5	% Impedance 1 Sample Phase(Z), /dev6036/imps/0/sample.PhaseZ
6	% Frequency (Hz); Impedance 1 Sample Abs(Z) Impedance (Ohm); Impedance 1 Sample Phase(Z) Phase(Z) (deg)
7	0.2; 18.1077840866; -0.145091018643
8	0.2321360139073597; 18.1318397078; 0.0558526844838
9	0.2694356447639893; 18.1334956278; 0.0610461563159
10	0.3127285829003592; 18.1345459041; 0.0584977967821
11	0.3629778333469332; 18.1345079899; 0.0579290514715
12	0.4213011368494348; 18.1327132977; 0.058010113445
13	0.4889958328143341; 18.1390923621; 0.0593951299459
14	0.5675677172341458; 18.1397030415; 0.0622417408562
15	0.6587645375061701; 18.1431210718; 0.0595940833035
16	0.7646148692010384; 18.1416141133; 0.0544500207454
17	0.8874732395531308; 18.1442052068; 0.0565408900625
18	1.030072501396575; 18.1427793081; 0.0579642524505
19	1.195584622548921; 18.1426179602; 0.0571729587427
20	1.387691242837208; 18.1423954416; 0.0552366049463
21	1.610665568231896; 18.1435151885; 0.0595930219214
22	1.869467423735924; 18.1436334594; 0.0532679231329
23	2.169853579378591; 18.1438794333; 0.0575968722353
24	2.518505803397814; 18.1427105617; 0.0549752235681
25	2.923179491016604; 18.1428344746; 0.0516879934285
26	3.392876174901693; 18.1439211237; 0.0553679949464
27	3.938043754614644; 18.1453801627; 0.0546877595079
28	4.570808898945079; 18.1413047982; 0.0524685067579
29	5.305246790666987; 18.1465268107; 0.0560892277371
30	6.157694213901236; 18.1431461025; 0.0530681941453
31	7.147112948377226; 18.1429761869; 0.0469897980512
32	8.295511553909829; 18.1419824406; 0.0504878122443
33	9.628434927235375; 18.1452507928; 0.0464867084103
34	11.17553252087409; 18.1342986343; 0.03577476518
35	12.97121786343889; 18.1409479583; 0.0523168254448
36	15.05543405171321; 18.1406861886; 0.0531618614152
37	17.47454224204916; 18.1381443408; 0.048476026133
38	20.28235290462533; 18.1422010044; 0.0424771627597
39	23.54132277971042; 18.143191053; 0.0478593964501

Figura 5.6

Formato file .txt contenente i dati forniti dall'MFIA





Codice MatLab utilizzato per ottenere i grafici di varie resistenze per file con estensione .txt

76	<pre>B = readmatrix(FILE2);</pre>	A	108	FPhase=F(1:end,3):
77	<pre>C = readmatrix(FILE3);</pre>	_	109	
78	<pre>D = readmatrix(FILE4);</pre>		110	MHz=G(1:end.1):
79	<pre>E = readmatrix(FILE5);</pre>		111	GAbs=G(1:end,2):
80	<pre>F = readmatrix(FILE6);</pre>		112	GPhase=G(1:end.3):
81	<pre>G = readmatrix(FILE7);</pre>	=	113	
82	<pre>H = readmatrix(FILE8);</pre>		114	MHz=H(1:end.1):
83	<pre>I = readmatrix(FILE9);</pre>		115	HAbs=H(1:end,2):
84	L = readmatrix(FILE10);		116	HPhase=H(1:end.3):
85	%TABULAZIONE DATI		117	
86	<pre>MHz=A(1:end,1);</pre>		118	MHz=I(1:end.1):
87	AAbs=A(1:end,2);		119	TAbs=T(1:end.2):
88	APhase=A(1:end,3);		120	IPhase=I(1:end.3):
89			121	
90	<pre>MHz=B(1:end,1);</pre>		122	MHz=L(1:end.1):
91	BAbs=B(1:end,2);		123	LAbs=L(1:end,2):
92	BPhase=B(1:end,3);		124	Phase=1 (1:end. 3):
93			125	
94	<pre>MHz=C(1:end,1);</pre>		126	H= [MH7 MH7 MH7 MH7 MH7 MH7 MH7 MH7 MH7 MH7]:
95	CAbs=C(1:end,2);		127	M= [AAbs BAbs CAbs DAbs EAbs FAbs GAbs HAbs IAbs LAbs]:
96	CPhase=C(1:end,3);		128	P= [APhase BPhase CPhase DPhase EPhase FPhase GPhase HPhase IP
97			129	
98	<pre>MHz=D(1:end,1);</pre>		130	end
99	DAbs=D(1:end,2);	12	131	
100	DPhase=D(1:end,3);	12	132	
101		12	133	
102	<pre>MHz=E(1:end,1);</pre>	12	134	
103	EAbs=E(1:end,2);	12	135	
104	EPhase=E(1:end,3);	12	136	
105		-	137	
106	<pre>MHz=F(1:end,1);</pre>	-	138	
107	FAbs=F(1:end,2);	-	139	
108	FPhase=F(1:end,3);		140	
109			141	
110	<pre>MHz=G(1:end,1);</pre>		142	
111	GAbs=G(1:end,2);		143	
112	GPhase=G(1:end,3);		144	
113			145	
114	1011 11/a 1 al			

Figura 5.8

Codice MatLab utilizzato per ottenere i grafici di varie resistenze per file con estensione .txt

,					
7	%PLOTTING	A	56	<pre>function [H,M,P]=groupcsv(X)</pre>	A
8 5	<pre>function plottingstd(Hz,Abs,Phase,valnominale)</pre>	_	57	%ACQUISIZIONE DATI	-
9	mediaAbs= <u>mean</u> (Abs');		58	FILE1=append (X, '1.csv');	
10	<pre>mediaPhase= mean (Phase');</pre>		59	FILE2=append (X, '2.csv');	
11	deviazioneAbs= std (Abs');		60	FILE3=append (X, '3.csv');	=
12	<pre>deviazionePhase= std (Phase');</pre>		61	FILE4=append (X, '4.csv');	=
13	<pre>mediastdAbs= mean (deviazioneAbs, 'all');</pre>		62	FILE5=append (X, '5.csv');	
14	<pre>mediastdPhase= mean (deviazionePhase, 'all');</pre>		63	FILE6=append (X, '6.csv');	
15	<pre>curve1Abs = mediaAbs + deviazioneAbs;</pre>		64	FILE7=append (X, '7.csv');	
16	<pre>curve2Abs = mediaAbs - deviazioneAbs;</pre>		65	FILE8=append (X, '8.csv');	
17	<pre>curve1Phase = mediaPhase + deviazionePhase;</pre>		66	FILE9=append (X, '9.csv');	
18	<pre>curve2Phase = mediaPhase - deviazionePhase;</pre>		67	FILE10=append (X, '10.csv');	
19	figure()		68	<pre>A = readtable(FILE1);</pre>	
20	subplot(2,2,1)		69	a=table2array(A, [6 0 105 7]);	
21	<pre>semilogx(Hz,mediaAbs,'b-','LineWidth', 1)</pre>		70	<pre>B = readtable(FILE2);</pre>	
22	title('Modulo Impedenza')		71	b=table2array(B, [6 0 105 7]);	
23	xlabel('Hz')		72	<pre>C = readtable(FILE3);</pre>	
24	ylabel(' Z (Ohm)')		73	c=table2array(C, [6 0 105 7]);	
25	grid on		74	<pre>D = readtable(FILE4);</pre>	
26	hold on		75	d=table2array(D, [6 0 105 7]);	
27	<pre>dev=num2str(max((deviazioneAbs)/valnominale));</pre>		76	<pre>E = readtable(FILE5);</pre>	
28	<pre>lege=strcat('Abs','±',dev,'%');</pre>		77	e=table2array(E, [6 0 105 7]);	
29	<pre>semilogx (Hz,curve1Abs,'r-', 'LineWidth', 0.2)</pre>		78	%TABULAZIONE DATI	
30	<pre>semilogx (Hz,curve2Abs,'r-','LineWidth', 0.2)</pre>		79	AMHz=a(1:end,1);	 E
31	<pre>legend(lege,'std+','std-')</pre>		80	AAbs=a(1:end,4);	
32	subplot(2,2,2)		81	APhase=a(1:end,2);	
33	<pre>semilogx(Hz,mediaPhase,'b-', 'LineWidth',1)</pre>		82		
34	<pre>title('Fase Impedenza')</pre>		83	BMHz=b(1:end,1);	
35	xlabel('Hz')		84	BAbs=b(1:end,4);	
36	ylabel('Arg(Z) (Deg)')		85	BPhase=b(1:end,2);	
37	grid on		86		
38	hold on		87	CMHz=c(1:end,1);	
39	<pre>dev2=num2str(max(deviazionePhase));</pre>		88	CAbs=c(1:end,4);	
40	<pre>lege2=strcat('Phase','±',dev2);</pre>		89	CPhase=c(1:end,2);	
41	<pre>semilogx (Hz,curve1Phase,'r-', 'LineWidth', 0.2)</pre>		90		
42	<pre>semilogx (Hz,curve2Phase,'r-','LineWidth', 0.2)</pre>		91	DMHz=d(1:end,1);	
43	<pre>legend(lege2,'std+','std-')</pre>		92	DAbs=d(1:end,4);	
44	subplot(2,2,3)		93	DPhase=d(1:end,2);	
45	<pre>semilogx (Hz,deviazioneAbs/valnominale)</pre>		94		

Figura 5.9

Codice MatLab utilizzato per ottenere i grafici di varie resistenze per file con estensione .csv





Codice MatLab utilizzato per ottenere i grafici dei sensori di temperatura per file con estensione .txt



Figura 5.11

Codice MatLab utilizzato per ottenere i grafici di sensori di livello per file con estensione .txt

6- CONCLUSIONI

La spettrografia di impedenza si è imposta negli anni come una delle principali tecniche utilizzate per lo studio della composizione corporea e per l'analisi dello stato di salute umano, ma non solo. Molti sono stati gli aggiornamenti subiti da questa tecnica ma grazie alla propria versatilità e semplicità di utilizzo si è resa disponibile anche ai meno esperti in misure elettroniche, diventando uno strumento di utilizzo casalingo, con una qualità di misura limitata, atto a mantenere controllati alcuni fattori fisici soprattutto per sportivi o pazienti affetti da gravi patologie. Grazie anche a questi vantaggi è stata utilizzata in molteplici campi di ricerca: dalla pletismografia alla frenologia, dalla caratterizzazione elettrica all'individuazione di cellule tumorali, considerando anche tutte le applicazioni non prettamente biomediche, come ad esempio il food-screening. L'enorme potenziale di questa tecnica deve essere ancora sfruttato a pieno e può offrire ancora diversi contributi in aree di ricerca non ancora sondate. Essa è stata la chiave di numerose scoperte scientifiche permettendo, tramite alcune semplificazioni, di rappresentare la realtà tramite concetti noti riconducendo le caratteristiche elettriche di un qualsiasi oggetto a valori numerici tangibili ed analizzabili.

Nonostante tutti questi vantaggi, è bene tenere in considerazione anche i limiti di questa tecnica che si basa pur sempre su approssimazioni e semplificazioni della realtà. Ad esempio, il corpo non è un conduttore cilindrico e i tessuti che lo compongono non sono abbastanza omogenei da essere suddivisi semplicemente in tre o quattro categorie, basti anche solo pensare alle differenze di distribuzione di acqua e sale. Lo sviluppo di diverse equazioni predittive non può in alcun modo rappresentare le enormi differenze che esistono tra individui, per questo, è necessaria un'ottimizzazione specifica sulla base dello scopo finale. Nonostante sia probabilmente riconducibile ad un fattore di produzione limitata, un ulteriore svantaggio è legato all'ingente spesa necessaria per l'acquisto di strumentazioni caratterizzate da uno standard di performance elevato, riducendo l'utilizzo di queste a università o enti privati, specializzati nella ricerca.

Affidarsi solamente a questa tipologia di rilevazione non è sempre esaustivo, difatti, è buona prassi affiancare a queste misurazioni anche quelle più classiche, come ad esempio l'antropometria e la plicometria, supportate da più anni di ricerca ed esperienza sul campo.

Analizzando ora l'opera di caratterizzazione è possibile concludere che le nozioni offerte dalla teoria sono state riscontrate, valutate e dimostrate. I dati rilevati coincidevano con una buona approssimazione con quelli che si erano calcolati a partire dalle equazioni disponibili. Anche quando sono state riscontrate non idealità o imprecisioni è stato possibile ricondurle a teorie verificate e ipotesi verosimili; inoltre, come nel caso dell'utilizzo della gabbia di Faraday, è stato possibile porre rimedio a condizioni parassite tramite l'utilizzo di oggetti di schermatura e parametri compensativi.

Dal confronto delle misurazioni di alcune resistenze a valore noto, tramite i due analizzatori impedenziometrici, PalmSens3 e MFIA, è stato possibile esaminare le differenze caratteristiche che intercorrevano tra essi. Si è verificato, tramite prove sperimentali, come il primo fosse più preciso per misurazioni d'impedenza ad un range di frequenza e di modulo d'impedenza minori rispetto al secondo, viceversa, l'MFIA si è dimostrato più preciso ed accurato per frequenze relativamente elevate e per valori d'impedenza superiori. Le funzioni proposte dall'azienda svizzera Zurich Instrument si sono rivelate molto utili, precise e più intuitive rispetto al PalmSens3, permettendo un'analisi grafica preliminare delle misure direttamente dal software LabOne.

La caratterizzazione effettuata sul termoresistore stampato può essere considerata soddisfacente poiché i dati empirici seguivano fedelmente la rappresentazione teorica. È stato necessario effettuare delle misurazioni a gradini poiché la piastra riscaldante non permetteva di ottenere un aumento di temperatura costante; un diverso andamento non avrebbe permesso di valutare la relazione tra temperatura e impedenza.

Il progetto dei due sensori di livello si è rilevato un sistema di misura accurato e preciso nonostante la sua semplicità ed è stato possibile riconoscere e valutare le variazioni di impedenza in relazione all'aumento di fluido nel becher. Si sono ottenuti valori più discriminanti con la predisposizione delle due corsie opposte rispetto a quelle adiacenti, che hanno saputo comunque caratterizzare il misurando in tutto il campo di lavoro. Infine, si è analizzato il comportamento di entrambi i sensori per misurazioni di soluzioni ioniche. Nel caso specifico è stato diluito del sale da cucina nell'acqua distillata, ed è stato verificato che entrambi sensore perdeva gran parte delle caratteristiche di accuratezza e precisione, non riuscendo a seguire il misurando apprezzabilmente. Nonostante ciò, è ipotizzabile che, con l'aggiunta di un circuito amplificatore, codici di elaborazione dati ed il perfezionamento delle componenti del sistema di misura, possibile ottenere un sensore che presenti gli standard necessari per l'utilizzo in ambiente medico.

7- BIBLIOGRAFIA

- L. Ward C., «Bioelectrical impedance analysis for body composition assessment: reflections on accuracy, clinical utility, and standardisation,» *European Journal of Clinical Nutrition*, n. 73, pp. 194-199, 8 October 2018.
- [2] L. Roa, N. D e R.-T. J, «Applications of bioimpedance to end stage renal disease (ESRD),» *Stud Comput Intell*, vol. 404, pp. 689-769, 2013.
- [3] I. Showkat, F. A. Khanday and R. M. Beigh, "A review of bio-impedance devices," *Medical & Biological Engineering & Computing*, no. 61, pp. 927-950, 13 January 2023.
- [4] Simi¢-Krsti¢ JB, Kalauzi AJ, Ribar SN, Matija LR e Misevic GN, «Electrical properties of human skin as aging bio- markers,» *Gerontol*, n. 57, pp. 163-167, 2014.
- [5] B. Fu e F. T, «Electrical equivalent network modeling of forearm tissue bioimpedance,» *SoutheastCon. IEEE*, pp. 1-7, 2019.
- [6] S. Khalil, M. M e I. F, «The theory and fundamentals of bioimpedance analysis in clinical status monitoring and diagnosis of diseases,» *Sensors*, vol. 6, n. 14, p. 10895–10928, 2014.
- [7] J. Radó, A Tóth e A Haris, «Role of aldosterone in potassium secretion in chronic renal failure associated with hypertension (transtubular potassium gradient),» Orv Hetil, vol. 40, n. 138, pp. 2517-2520, 1997.
- [8] P. Gupta, F. GC e H. TB, «Obesity and the obesity paradox in heart failure,» *Can J Cardiol*, vol. 31, n. 2, pp. 195-202, 2015.
- [9] S. Hocking, S.-B. D, M. K-L, G. JR e C. DJ, «Adiposity and insulin resistance in humans: the role of the different tissue and cellular lipid depots,» *Endocr Rev*, vol. 34, n. 4, pp. 463-500, 2013.
- [10] E. Widen e G. D., «Body composition changes in pregnancy: measurement, predictors and outcomes,» *Eur J Clin Nutr*, vol. 68, n. 6, p. 643–652, 2014.
- [11] A. SherwoodChair, F. J. Allen MT, K. RM, L. WR e D. LJ, «Methodological guidelines for impedance cardiography,» *Psychophysiol*, vol. 27, n. 1, pp. 1-23, 1990.
- [12] S. Tonello, C. E., S. M., S. E. e M. M., «Monitoring Caco-2 to enterocyte-like cells differentiation by means of electric impedance analysis on printed sensors,» BBA -General Subjects, pp. 893-902, 14 February 2019.
- [13] A. Sánchez-Iglesias, M. Fernández-Lucas and J. L. Teruel, "The electrical basis of bioimpedance," *Revista Nefrologí*, vol. 2, no. 32, pp. 133-135, 2 January 2012.
- [14] R. Buendia, S. F, H. M, C. J e G.-P. R, «Estimation of body fluids with bioimpedance spectroscopy: state of the art methods and proposal of novel methods,» *Institute of Physics and Engineering in Medicine*, n. 36, p. 2171–2187, 2015.
- [15] C. Ward L., «Early diagnosis in latent phase Lymphedema A Concise Compendium of Theory and Practice,» Springer, vol. 21, n. 14, p. 599, 2011.
- [16] A. Samer R., L. Liu, M. H. Sipahioglu, L. Rosales, M. Carter, P. Kotanko, N. W.

Levin e F. Zhu, «Comparison of bioimpedance techniques to detect changes in fluid status in hemodialysis patients,» *Blood Purif*, vol. 1, n. 37, pp. 48-56, 2014.

- [17] V. F. Sitnikov, N N Leskova e N P Potashnikova, «Features of potassium metabolism in progressive muscular dystrophy,» *Zh Nevropatol Psikhiatr Im S S Korsakova*, vol. 11, n. 80, pp. 1617-1620, 1980.
- [18] M. Dittmar e H. Reber, «New equations for estimating body cell mass from bioimpedance parallel models in healthy older Germans,» Am J Physiol Endocrinol Metab, n. 281, pp. E1005-E1014, 22 June 2001.
- [19] Thawee Chanchairujira e Ravindra L. Metha,, «Bioimpedence and Its Application,» Saudi Journal of Kidney Diseases and Trasplantation, vol. 1, n. 16, pp. 6-16, 2005.
- [20] M. Thomasset, "Bioelectric properties of tissue. Impedance measurement in clinical medicine. Significance of curves obtained.," *Lyon Med*, n. 94, pp. 107-118, 1962.
- [21] E. Hoffer, M. CK e S. DC, «Correlation of whole-body impedance with total body water volume,» *J Appl Physiol*, n. 27, pp. 531-534, 1969.
- [22] H. Lukaski, J. PE, B. WW e L. GI, «Assessment of fat-free mass using bioelectrical impedance measurements of the human body,» Am J Clin Nutr., n. 41, pp. 810-817, 1985.
- [23] J. Nyboer, M. M. Kreider e L. Hannapel, «Electrical impedance plethysmography; a physical and physiologic approach to peripheral vascular study,» *Circulation*, vol. 2, n. 6, pp. 811-821, 1 December 1950.
- [24] B. Hille, «Ionic channels in nerve membranes,» Prog Biophys Mol Biol, n. 21, pp. 1-32, 1970.
- [25] E. E. Crane e R. E. Davies, «Transport of radioactive Na+ and K+ through gastric mucosa,» *Biochem J.*, vol. 4, n. 45, 1949.
- [26] H. M. Shizgal, A H Spanier, J Humes e C D Wood, «Indirect measurement of total exchangeable potassium,» Am J Physiol, vol. 3, n. 233, pp. F253-F259, 1977.
- [27] A. Schoeller D., «Human body composition,» Hydrometry, vol. 1, pp. 25-44, 1996.
- [28] M. Miller, C. J e F. G, «Bromide space determination using anion-exchange chromatography for measurement of bromide,» *Clinical Nutrition*, n. 50, pp. 168-171, 1989.
- [29] P. Deurenberg, C S Kusters e H E Smit, «Assessment of body composition by bioelectrical impedance in children and young adults is strongly age-dependent,» *European journal of clinical nutrition*, vol. 4, n. 44, pp. 261-268, 1990.
- [30] C. M. Nightingale, A. R. Rudnicka, C. G. Owen e et al., «Are Ethnic and Gender Specific Equations Needed to Derive Fat Free Mass from Bioelectrical Impedance in Children of South Asian, Black African-Caribbean and White European Origin? Results of the Assessment of Body Composition in Children Study,» *Plos One*, vol. 8, n. 10, pp. 1-11, 18 October 2013.
- [31] H. Magar S., Y. A. H. Rabeay and A. Mulchandani, "Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS): Principles, Construction, and Biosensing Applications," *Sensor*, vol. 21, pp. 1-21, 1 October 2021.
- [32] K. Foster, S. J. L, S. R. D e S. H. P, «Dielectric properties of brain tissue between

0.01 and 10 GHz,» Phys. Med. Biol., n. 24, pp. 1177-1187, 1979.

- [33] L. Schepps J. e F. K. R, «The UHF and microwave dielectric properties of normal and tumour tissues: variation in dielectric properties with tissue water content,» *Phys. Med. Biol.*, n. 25, pp. 1149-1159, 1980.
- [34] P. N. Miklavic Damijan, «Electric Properties of Tissues,» *Wiley Encyclopedia of Biomedical Engineering*, pp. 1-12, 2006.
- [35] S. R. Smith, K. R. Foster e G. L. Wolf, «Dielectric properties of VX-2 carcinoma versus normal liver tissue,» *Trans. Biomed. Eng.*, n. 33, pp. 522-524, 1986.
- [36] Y. Yamamoto, T. Yamamoto e T. Ozawa, «Characteristics of skin admittance for dry electrodes and the measurement of skin moisturisation,» *Med. Biol. Eng. Comput.*, n. 24, pp. 71-77, 1986.
- [37] O. G. Martinsen, S. Grimnes e E. Haug, «Measuring depth depends on frequency in electrical skin impedance measure- ments.,» n. 5, pp. 179-181, 1999.
- [38] C. M. A. Brett, «Electrochemical Impedance Spectroscopy in the Characterisation and Application of Modified Electrodes for Electrochemical Sensors and Biosensors,» *molecules*, n. 27, pp. 1-17, 2022.
- [39] E. T. McAdams e J. Jossinet, «Tissue impedance: a historical overview,» n. 16, pp. A1-A13, 1995.
- [40] J. E. B. Randles, «Kinetics of rapid electrode reactions,» *Discussion of the faraday Society*, vol. 1, n. 11, 1947.
- [41] C. Mencuccini e Vittorio Silvestrini, «Fisica II,» Liguori Editore, 2010.
- [42] B. R. Epstein e K. R. Foster, «Anisotropy in the dielectric properties of skeletal muscle,» Med. Biol. Eng. Comput, n. 21, pp. 51-55, 1983.
- [43] J. Davies S. e D. A, «The role of bioimpedance and biomarkers in helping to aid clinical decision-making of volume assessments in dialysis patients,» *Kidney*, vol. 86, pp. 489-496, 2014.