

NICOLO' SAVIOLI

TECNICHE SPETTROSCOPICHE D'IMPEDENZA PER LA POSSIBILE  
MISURAZIONE DI SODIO E GLUCOSIO NEL SANGUE

TESI DI LAUREA



Relatore: Prof.ssa Maria Pia Saccomani

Correlatore: Dott. Andrea Tura

Università degli Studi di Padova

Dipartimento di Ingegneria dell'informazione

Corso di Laurea in Ingegneria Biomedica

31 Marzo 2011

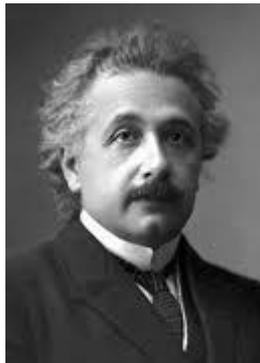




*Solo quelli che sono così folli da pensare di cambiare il mondo,*

*lo cambiano davvero.*

*- A. Einstein -*





**DEPARTMENT OF  
INFORMATION  
ENGINEERING**

---

**UNIVERSITY OF PADOVA**



*Ai miei Genitori,*



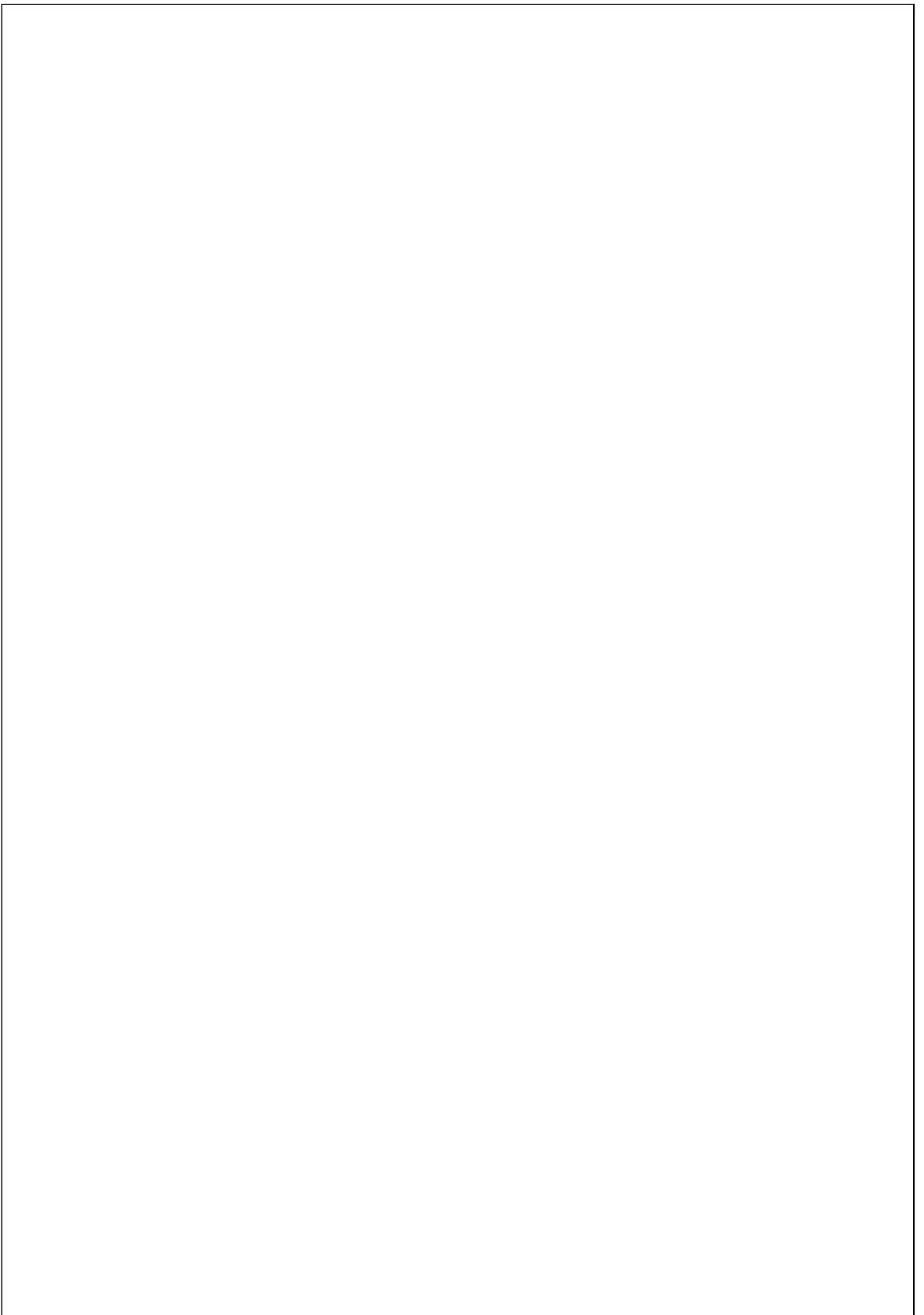
# Indice

Introduzione .....	13
<b>Capitolo 1 Le Tecniche non Invasive .....</b>	<b>16</b>
1.1 Definizione di non invasività e tecniche non invasive .....	16
1.1.2 Near infrared spectroscopy (NIR).....	17
1.1.2.1 Principio.....	17
1.1.2.2 Limiti.....	17
1.1.3 Mid-infrared spectroscopy (Mid-IR).....	18
1.1.3.1 Principio.....	18
1.1.3.2 Limiti.....	19
1.1.4 Spettroscopia d'impedenza .....	19
1.1.4.1 Principio.....	19
1.1.4.2 Limiti.....	19
<b>Capitolo 2 Modelli equivalenti .....</b>	<b>21</b>
2.1 L'impedenza.....	21
2.2 Elementi circuitali equivalenti.....	21
2.2.1 Resistenza.....	22
2.2.2 Condensatore.....	22
2.2.3 Induttanza.....	23

2.2.4 Impedenza di Warburg.....	23
2.2.5 Costant Phase Element.....	25
2.3 Apparato Sperimentale.....	26
2.3.1 Apparato di misura.....	26
2.3.2 Sistema di condizionamento.....	27
2.3.2.1 Il circuito di condizionamento d'ingresso.....	27
2.3.2.2 Circuito di condizionamento d'uscita.....	28
2.3.3 Cella conduttimetrica.....	29
2.4 Elaborazione di due circuiti equivalenti.....	30
2.4.1 Il Graphical Editor.....	30
2.4.2 Best-fit di dati sperimentali.....	31
2.4.3 Best-fit con un Circuito equivalente.....	33
2.4.3.1 Best-fit dell'impedenza di una Soluzione fisiologica con semplici circuiti.....	34
2.4.3.1.1 Serie tra una resistenza e un condensatore.....	34
2.4.3.1.2 Serie tra una resistenza e un CPE.....	35
2.4.3.1.3 Serie di una resistenza con un parallelo tra un condensatore con un'altra resistenza.....	35
2.4.3.1.4 Serie di una resistenza con un parallelo tra un CPE con un'altra resistenza.....	36
2.4.3.1.5 Serie tra: Renitenza, Impedenza di Warburg, Renitenza e Parallelo renitenza - CPE.....	36
2.4.3.1.6 Circuito equivalente finale della fisiologica non caricata.....	37
2.4.3.1.6.1 Sistemi a cascata.....	37
2.4.3.1.6.2 Sistemi in parallelo.....	38

2.4.3.2	Derivazione di un circuito equivalente per una soluzione Fisiologica caricata.....	39
2.4.3.3	Best-fit dell'impedenza di una Soluzione fisiologica più resina con semplici circuiti.....	41
2.4.3.3.1	Serie tra una resistenza e un condensatore.....	44
2.4.3.3.2	Serie tra una resistenza e un CPE.....	44
2.4.3.3.3	Serie di una resistenza con un parallelo tra un condensatore con un'altra resistenza.....	45
2.4.3.3.4	Serie di una resistenza con un parallelo tra un CPE con un'altra resistenza.....	45
2.4.3.3.5	Serie di una resistenza con un'impedenza di Warburg.....	46
2.4.3.3.6	Circuito equivalente finale dell'eluito non caricato.....	46
2.4.3.3.7	Derivazione di un circuito equivalente per un eluito carico.....	47
2.5	Interpretazione fisica dei Modelli.....	49
2.5.1	Conduttività Ionica e Resistenza dell'elettrolita.....	50
2.5.1.1	Le concentrazioni ioniche.....	52
2.5.1.2	Equazione di una Resistenza in funzione dei grammi di NaCl disciolti.....	54
2.5.1.2.1	Coefficiente di Van't Hoff e pressione osmotica.....	54
2.5.1.2.2	Concentrazione molare.....	55
2.5.1.2.3	Proprietà elettriche di una soluzione elettrolitica.....	56
<b>Capitolo 3 Analisi Sperimentale .....</b>		<b>59</b>
3.1	Strumentazione.....	59
3.1.1	Strumentazione di misura.....	59
3.1.2	Strumenti per passaggio o mescolamento della soluzione fisiologica attraverso resina.....	61
3.2	Materiali.....	62

3.2.1 Resine a scambio ionico.....	62
3.2.1.1 Resine a eliminazione di sodio.....	62
3.2.1.2 Resina a rilascio $\text{OH}^-$ .....	62
3.2.2 Soluzione fisiologica.....	63
3.2.3 Glucosio.....	63
3.2 Metodologia Sperimentale.....	64
3.3.1 Scopi.....	64
3.3.2 Procedura degli esperimenti.....	64
3.3.2.1 Mescolamento soluzione- resina con colonna di eluizione.....	64
3.3.2.2 Mescolamento resina-soluzione con Agitatore Magnetico.....	65
3.3.2.3 Prove in presenza del Glucosio.....	67
3.3.2.4 Legame tra il gap d'impedenza e la concertazione percentuale di NaCl.....	69
3.3.2.4.1 Prove con il Ringer Lattato.....	73
3.3.2.4.2 Prove in presenza del glucosio.....	74
Conclusioni.....	77
Bibliografia.....	80



## Introduzione

Ho svolto la mia tesi presso l'ISIB del CNR di Padova, seguito dal Dott. Tura Andrea la cui attività di ricerca si svolge nel campo del monitoraggio della glicemia attraverso tecniche non invasive. Durante il mio tirocinio al CNR sono stato inserito all'interno del progetto chiamato "Noninvasive glucose monitor" per la misura non invasiva del glucosio nel sangue.

Negli ultimi dieci anni si è venuto a creare un forte interesse per lo sviluppo di tecnologie che potessero misurare la glicemia attraverso metodi non invasivi, poiché, oggi, i glucometri tradizionali, che sono uno dei principali attori nella prevenzione del diabete, rimangono costosi, poco affidabili e invasivi.

Sono stati studiati e analizzati vari strumenti d'indagine giacché, in quest'ambito, vi sono svariati metodi di approccio. Tant'è vero che, a tal proposito, sono stati molti i tentativi nell'ambito della ricerca per giungere alla costruzione di un glucometro che garantisca un'accurata misurazione glicemica. Abbiamo perciò analizzato diversi tipi di metodi per la misurazione di glicemia tra questi, ne abbiamo scelto uno basato su tecniche di spettroscopia d'impedenza. Infatti è noto che al variare della concentrazione di glucosio presente in una soluzione, e di conseguenza anche nel sangue, venga a variare anche l'impedenza della soluzione stessa.

Il progetto da me seguito all'ISIB si interessava, precisamente, di studiare la tecnologia dell'impedenza. Ho proceduto effettuando varie prove in vitro su delle soluzioni che presentino delle similitudini con il sangue e, più precisamente, sulla soluzione sodio-cloruro al 0,9% comunemente conosciuta come soluzione fisiologica. Utilizzando questa soluzione, ho verificato come all'aumentare della concentrazione di glucosio aumenti l'impedenza della soluzione.

In seguito, si è preso in considerazione il ruolo principale e attivo dei possibili confondenti nel sangue, nell'ipotesi in cui dovessimo eseguire misurazioni in vitro. In particolare, un elemento di importante disturbo è lo ione sodio poiché contribuisce in modo non poco incisivo a determinare, insieme al glucosio, l'impedenza di una soluzione (specialmente del sangue).

Durante queste analisi, al fine di risolvere questo importante problema dei confondenti, si è quindi scoperto che è possibile far passare una soluzione contenente sodio attraverso una specifica resina a scambio ionico (DOWX G-26) che ha la capacità di far diminuire tali ioni. La differenza d'impedenza della soluzione, misurata prima e dopo il passaggio attraverso la resina, dipende dalla concentrazione del sodio stesso.

Grazie a questa deduzione empirica siamo stati capaci di costruire una curva di taratura, ponendo i valori del delta d'impedenza nella retta delle ascisse e collocando in quella delle ordinate i valori che si riferiscono alla concentrazione dello ione sodio.

A questo punto, grazie alla curva costruita, è possibile risalire alla concentrazione di sodio semplicemente misurandone l'impedenza della soluzione (o in un caso più realistico del sangue). Questo mi dà la possibilità di ricavare, sempre grazie ai dati d'impedenza tabulati nella curva, la

concentrazione di glucosio in quanto l'impedenza totale misurata è data dalla concentrazione del glucosio più quella del sodio.

Sfortunatamente questa tecnica si allontana dal concetto inteso per non invasivo dal momento che è evidentemente impossibile poter iniettare della resina su un soggetto. Tuttavia, potrebbe essere interessante considerare questa tecnica per poter migliorare la misura tradizionale fatta a domicilio con i glucometri, misurazioni che sappiamo essere tutt'altro che affidabili (a tale proposito ho potuto verificare personalmente gli scostamenti di tre glucometri diversi).

Questa nuova tecnica, ancora in fase di studio poiché richiede tuttora la goccia di sangue, basata sull'uso congiunto delle resine e della misura d'impedenza, potrebbe essere alla base di una nuova generazione di glucometri domiciliari, sempre di tipo invasivo, ma se non altro molto più affidabili in termini di precisione della misura.



## Capitolo 1

# Le Tecniche non Invasive

In questo capitolo introduttivo saranno enucleate le diverse tecniche non invasive introducendo infine quella da noi utilizzata: la spettroscopia d'impedenza.

### 1.1 Definizione di non invasività e tecniche non invasive

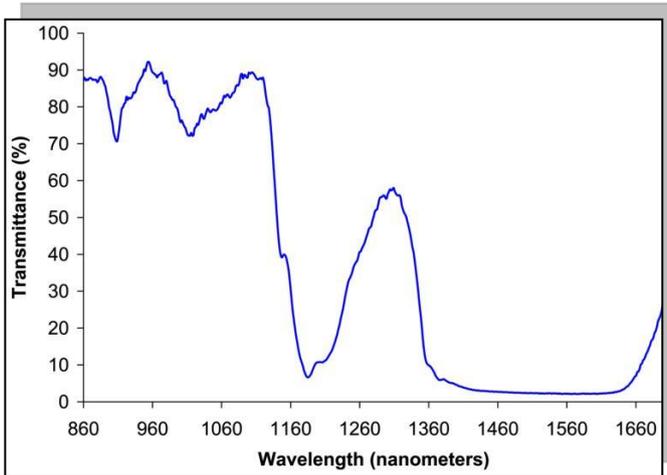
Patologie come il diabete di tipo (II) e specialmente di tipo (I) richiedono frequenti auto monitoraggi della glicemia. Negli ultimi vent'anni diversi progetti sono stati portati avanti per stabilire una tecnica non invasiva in grado di valutare la glicemia, come per esempio un'applicazione che non richieda il prelievo del sangue. Tuttavia, si può affermare che il monitoraggio del glucosio non invasivo è ancora nella prima fase di sviluppo. L'obiettivo di quest'analisi è quello di descrivere le principali tecnologie per il monitoraggio non invasivo del livello del glucosio e i procedimenti più rilevanti.

C'è da dire che alcune tecnologie non sono state descritte: questo è dovuto alla definizione di “non invasivo” considerata. Infatti, per quanto riguarda la spiegazione di non invasivo, bisogna notare che alcuni autori considerano come “non invasivo” solo le tecnologie e i procedimenti derivanti, ottiche o opto acustiche, mentre le tecnologie che interessano la generazione di corrente elettrica in una parte del corpo umano o che causano la creazione di buchi nella pelle, sono considerati “minimamente invasivi”. Al contrario, altri autori considerano come non invasivo tutto ciò che non richieda il prelievo del sangue. La definizione di non invasivo, considerata in quest'analisi, sta nel mezzo: consideriamo non invasivo ciò che non porta al prelievo del sangue e che non causa penetrazione di un oggetto solido nella pelle. Perciò, non abbiamo considerato “invasivo” l'uso di un ago impiantato anche superficialmente nei tessuti sottocutanei. Tuttavia, abbiamo accettato come non-invasivo quelle tecnologie che creano microscopici buchi sulla pelle con deboli luci laser o ultrasuoni.

Di seguito presenterò alcune tecniche, che ritengo più rilevanti, per la misurazione non invasiva del glucosio per paragonarle alla tecnica da me utilizzata nelle varie sperimentazioni, che presenterò come ultima.

## 1.1.2 Near infrared spectroscopy (NIR)

### 1.1.2.1 Principio



Il NIR è basato sul fatto di far convergere un raggio di luce di 750–2500 nm sul corpo. Lo spettroscopio NIR permette la misurazione del glucosio nei tessuti in una gamma di 1–100 mm d'intensità, con una diminuzione nella profondità di penetrazione per aumento dei valori di lunghezza d'onda. La luce che converge sul corpo è parzialmente assorbita e dispersa, fatto dovuto alla sua interazione con i componenti chimici presenti all'interno dei tessuti. L'attenuazione della luce in questi è

descritta secondo la teoria di trasporto della luce, dall'equazione  $I = I_0 e^{-\mu_{\text{eff}} d}$  dove  $I$  è l'intensità della luce riflessa,  $I_0$  è intensità della luce incidente,  $\mu_{\text{eff}}$  è il coefficiente effettivo di attenuazione e  $d$  è la lunghezza della traiettoria ottica nel tessuto.

Dall'altra parte,  $\mu_{\text{eff}}$  può essere espresso come una funzione  $\mu_{\text{eff}} = f(\mu_a, \mu_s)$  dove  $\mu_a$  è il coefficiente di assorbimento e  $\mu_s$  è il coefficiente di diffusione. I cambiamenti nella concentrazione di glucosio possono influenzare  $\mu_a$  di un tessuto attraverso cambi di assorbimento. Tali cambiamenti nella concentrazione di glucosio concernono anche l'intensità di luce riflessa dai tessuti, cioè  $\mu_s$ . Questo coefficiente è una funzione composta dalla densità dei centri di diffusione nel volume del tessuto osservato, dei loro indici di rifrazione e dall'indice di rifrazione del fluido che lo circonda. Nel caso dei tessuti cutanei, le fibre del tessuto connettivo sono i centri diffusori. Gli eritrociti sono i centri di diffusione per il sangue. Riassumendo, le concentrazioni di glucosio possono essere calcolate da variazioni d'intensità di luce sia trasmesse attraverso un tessuto contenente glucosio e riflessa dallo stesso (tessuto). La trasmissione o la riflettanza (localizzata o diffusa) della luce possono essere misurate da rilevatori adatti.

La trasmissione della luce è stata studiata attraverso il lobo dell'orecchio, la membrana interdigitale, la pelle dell'avambraccio, la mucosa labiale, mucosa orale, la lingua, il setto nasale, le guance e il braccio.

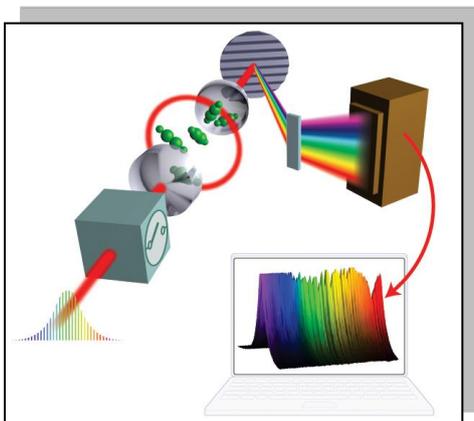
### 1.1.2.2 Limiti

Il coefficiente di assorbimento del glucosio nella banda del NIR è basso e molto più piccolo di quello dell'acqua grazie all'ampia disparità nelle loro rispettive concentrazioni. Perciò, nel NIR le

deboli bande dello spettro del glucosio si sovrappongono con non solo le fasce più forti dell'acqua, ma anche dell'emoglobina, delle proteine e dei grassi. Per quanto concerne il coefficiente di diffusione (o coefficiente di trasmittanza termica), l'effetto di un soluto (come il glucosio) sull'indice di rifrazione di un mezzo non specifico, è comune ad altri analiti solubili. Inoltre, i parametri chimici e fisici, come la variazione nella pressione sanguigna, la temperatura corporea, l'idratazione della pelle, i trigliceridi e la concentrazione di albumina, possono interferire con la misurazione del glucosio. Errori possono verificarsi a causa di variazioni ambientali quali il cambiamento della temperatura, umidità, il biossido di carbonio e la pressione atmosferica. I cambiamenti di glucosio stessi possono introdurre altri fattori che possono creare disturbo: per esempio, è stato provato che l'iperglicemia, come l'iperinsulinemia (spesso connessa a pazienti precedentemente obesi), può indurre la vaso dilatazione, che risulta in un aumentato irroramento. Questo fenomeno aumenta l'assorbimento della luce, e quindi può portare a errori nella considerazione della concentrazione di glucosio nel sangue, se non tenuto in considerazione. È stato inoltre evidenziato che l'iperglicemia può avere effetti sulle proprietà strutturali della pelle. I soggetti diabetici, infatti, possono presentare "pelle gialla" o "pelle spessa", probabilmente dovuto all'acceleramento dell'invecchiamento del collagene e alla consumazione delle fibre elastiche. Perciò, la luce riflessa dalla pelle di soggetti diabetici potrebbe avere una differente intensità rispetto a quella di un soggetto in salute a un uguale livello di glicemia. Anche le proprietà termali della pelle sono state trovate essere diverse in soggetti con iperglicemia, e per cui toccano la riflettenza localizzata della luce. L'iperglicemia può anche causare differenze nell'indice di riflettenza dei globuli rossi del sangue, che portano a diverse diffusioni della luce. Un altro fattore che crea confusione è dovuto al fatto che le misurazioni del NIR spesso riflettono la concentrazione di glucosio in diverse parti del corpo, non solo nel sangue ma anche il liquido interstiziale in diversi tessuti che possono contribuire al segnale di misurazione.

### 1.1.3 Mid-infrared spectroscopy (Mid-IR)

#### 1.1.3.1 Principio



Il Mid-IR è basato sulla luce di gamma 2500-10,000 nm. Il principio fisico è simile a quello del NIR. Comparato al NIR, comunque, a causa delle lunghezze d'onda più alte, il Mid-IR mostra un decrescente fenomeno di diffusione, e un crescente assorbimento. Per questa ragione, la penetrazione nei tessuti della luce può raggiungere pochi micrometri: nel caso della pelle umana, corrispondente allo strato della cornea. Come conseguenza, solo la luce riflessa e diffusa può essere considerata. D'altra parte, un possibile vantaggio del Mid-IR

rispetto al NIR è che le fasce del Mid-IR prodotte dal glucosio, come altri composti, sono più sottili di quelle del NIR che sono spesso deboli e larghe.

I luoghi di misurazione degli studi sono riportati relativamente alla pelle delle dita e della mucosa orale.

### **1.1.3.2 Limiti**

Una forte limitazione è la povera penetrazione. In più, il Mir-IR è affetto da problemi simili e fattori contraddittori del NIR, sebbene le bande del glucosio siano potenzialmente migliorate. Per esempio, alcuni studi hanno mostrato una significativa dipendenza della pelle dal suo contenuto d'acqua nel Mid-IR.

### **1.1.4 Spettroscopia d'impedenza**

#### **1.1.4.1 Principio**

L'impedenza di un tessuto può essere misurata da flussi di corrente di conosciuta intensità attraverso questo. Se l'esperimento viene ripetuto con alternazione di corrente a diverse lunghezze d'onda, si viene a determinare lo spettro d'impedenza (dielettrico). Lo spettro dielettrico è misurato con una gamma di frequenza da 100 Hz a 100 MHz. Variazioni nel plasma di concentrazioni di glucosio inducono nei globuli rossi una diminuzione della concentrazione dello ione sodio, e un aumento di concentrazione dello ione potassio. Queste variazioni causano cambiamenti nel potenziale di membrana dei globuli rossi, che possono essere esaminati determinando la conducibilità e la permittività della membrana cellulare attraverso lo spettro dielettrico.

Lo studio più conosciuto è stato fatto con un procedimento simile a quello di un orologio posizionato sul polso.

#### **1.1.4.2 Limiti**

Rimangono da chiarire alcuni problemi, come l'effetto del contenuto d'acqua nel corpo e della disidratazione. Inoltre, alcune malattie che colpiscono le membrane cellulari possono avere un'influenza che deve essere valutata.

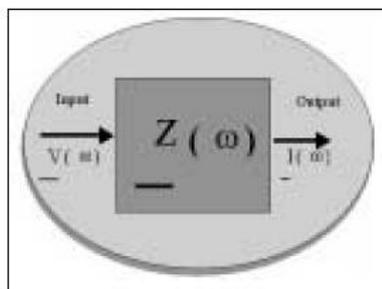


## Capitolo 2

# Modelli equivalenti

In questo capitolo saranno illustrati i componenti principali dei circuiti equivalenti i quali successivamente saranno utilizzati per costruire modelli circuitali, al fine di approssimare spettri di impedenza sperimentali

### 2.1 L'impedenza



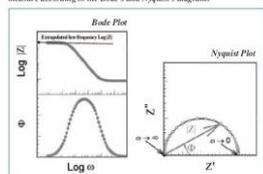
L'impedenza elettrochimica è stata introdotta per lo studio di sistemi elettrochimici sottoposti ad un regime elettrico sinusoidale . L'espressione matematica dell'impedenza elettrochimica si avvale dei numeri immaginari ed è la seguente:  $Z = R_e + jI_m$ . Ciascun sistema elettrochimico può essere ridotto a un sistema di circuiti equivalenti (resistenze, capacitori, induttanze) in serie e/o in parallelo.

Ciò che interessa nell'analisi del sistema elettrochimico in regime elettrico sinusoidale, è quindi, rispettivamente, il modulo d'impedenza elettrochimica  $|Z| = \sqrt{R_e^2 + I_m^2}$  e l'angolo di fase  $\theta = |\arctg I_m/R_e|$  entrambi diagrammati rispetto alla frequenza d'oscillazione del potenziale (Diagramma di Bode).

### 2.2 Elementi circuitali equivalenti

L'interpretazione delle misure passa attraverso una modellazione del sistema elettrochimico che consente di collegare la forma dello spettro e le impedenze misurate alle proprietà del sistema alla fenomenologia in corso. A tal scopo, gli spettri d'impedenza sono confrontati con dei circuiti equivalenti, ovvero reti di dipoli ideali che presentano spettro d'impedenza uguale al sistema reale, in tutto il suo campo d'interesse, o in un intervallo ristretto di frequenza.

Fig. 11 - Rappresentazione grafica di una misura di impedenza secondo il diagramma di Bode e quello di Nyquist / Graph of an impedance measure according to the Bode's and Nyquist's diagrams



Bisogna osservare inoltre che tali sistemi sottendono ad una condizione d'equivalenza la quale non è completamente sufficiente ad identificare

univocamente il sistema elettrico da accoppiare al sistema reale in quanto circuiti diversi possono dare origine a spettri uguali. Pertanto soltanto una corretta interpretazione dei fenomeni fisici che caratterizza il sistema analizzato può condurre a una corretta modellazione.

In sostanza, i vari componenti che costituiscono gli elementi dei modelli circuitali teorici descriventi le caratteristiche dei sistemi studiati si dividono in due ben distinte categorie. Da un lato vi sono i tipici elementi circuitali come:

- Resistenza
- Condensatore
- Induttanza

Dall'altro vi sono proprio quegli elementi specificamente sviluppati per l'adattamento delle simulazioni circuitali ai diversi processi elettrochimici. Nella fattispecie essi sono principalmente due:

- Impedenza di Warburg
- CPE (Costant Phase Element)

### 2.2.1 Resistenza

L'impedenza  $Z_R$  di una resistenza è data da:



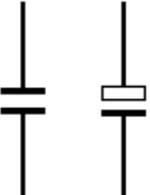
$$Z_R(j\omega) = R \quad (2.1)$$

**Resistor**

Sostanzialmente, l'impedenza  $Z_R$  di una resistenza ha semplicemente componente reale uguale al valore nominale della resistenza  $Re(Z_R)=R$  e parte immaginaria nulla  $Im(Z_R)=0$ .

### 2.2.2 Condensatore

L'impedenza  $Z_C$  di un condensatore è formata da:



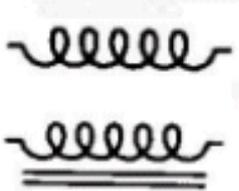
$$Z_C(j\omega) = \frac{1}{j\omega C} = -j \frac{1}{\omega C} \quad (2.2)$$

Come facilmente capibile  $Z_C$  ha componente reale nulla  $Re(Z_C) = 0$  e componente immaginaria negativa  $Im(Z_C) = -j \frac{1}{\omega C}$  per valori positivi di C. Ne consegue perciò un angolo di sfasamento

$$\Phi = -\frac{\pi}{2}$$

### 2.2.3 Induttanza

L'impedenza di un'induttanza è espressa da:



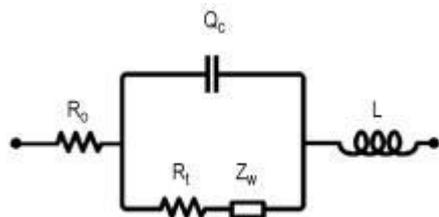
$$Zl(j\omega) = j\omega L \quad (2.3)$$

Come per il condensatore anche per l'induttore la parte reale è nulla  $Re(Zl) = 0$ , ma diversamente ha parte immaginaria positiva  $Im(Zl) = j\omega L$  per induttanze L positive. Si ottiene dunque la fase

$$\Phi = \frac{\pi}{2}$$

### 2.2.4 Impedenza di Warburg

L'impedenza di Warburg è stata appositamente sviluppata per descrivere fenomeni diffusivi che possono instaurarsi quando tra l'elettrodo e l'interfaccia si verifica una reazione redox o ossido-riduzione. C'è da dire, inoltre, che l'impedenza di tal elemento è funzione della frequenza f del potenziale d'input.



Un'importante caratteristica da tenere presente è che tale impedenza di Warburg, a valori alti di frequenza, ha valori

esigui, poiché le specie che possono diffondere sono poco mobili. Mentre, la sua importanza si fa sentire a bassa frequenza proprio perché le specie possono diffondere con maggiore facilità.

L'impedenza di Warburg  $Z_W$  per uno strato diffusivo teorico di spessore infinito vale:

$$Z_W(j\omega) = \sqrt{\sigma(\omega)} - \sqrt{j\sigma(\omega)} \quad (2.4)$$

In pratica nella relazione qui sopra citata,  $\omega$  è la frequenza angolare,  $j = \sqrt{-1}$  è l'unità immaginaria e  $\sigma$  una costante che vale appunto:

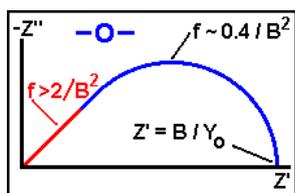
$$\sigma = \frac{RT}{n^2 F^2 \sqrt{2}} \left( \frac{1}{c_0 \sqrt{D_0}} + \frac{1}{c_R \sqrt{D_R}} \right) \quad (2.5)$$

Dove basti sapere che  $D_0$  e  $D_R$  sono coefficienti di diffusione rispettivamente della specie ossidante e riducente,  $c_0$  e  $c_R$  le concentrazioni di bulk sempre rispettivamente della specie ossidante e

riducente, infine  $n$  è il numero d'elettroni scambiati nella reazione redox. Il coefficiente di Warburg,  $\sigma$ , può essere determinato dalla pendenza del suo grafico o per esempio attraverso un procedimento di fitting di un modello di circuito equivalente che include tale impedenza. Tuttavia, in molti casi pratici si utilizza la seguente relazione:

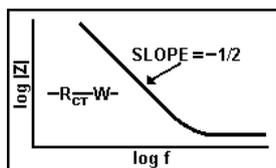
$$\sigma = \frac{1}{\sqrt{2} \cdot Y_0} \quad (2.6)$$

Dove  $Y_0$  è l'ammettenza ( $= 1 / Z$ ).



La figura a sinistra mostra il diagramma di Nyquist per un generico elemento di diffusione O.

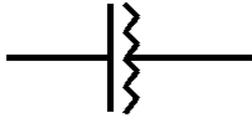
L'elemento O è caratterizzato da due parametri, un parametro dell'ammettenza (Reciproco dell'impedenza Z),  $Y_0$ , ed una costante di tempo, B (unità:  $\text{sec}^{1/2}$ ). Ad alta frequenza, circa ad ( $f > 2 / B^2$ ) l'elemento O è indistinguibile dalla impedenza di Warburg. In figura la gamma di frequenze ove avviene ciò è mostrata in rosso. Questo sostiene che il tempo per una molecola di diffondere attraverso il sottile strato è molto più lungo rispetto allo stimolo AC applicato, l'elettrodo quindi non "vede" che il film



o il rivestimento è di spessore finito.

Mentre nel diagramma di Bode, qui sempre a sinistra graficato, per un'impedenza di Warburg (W) in serie con una resistenza di trasferimento di carica ( $R_{CT}$ ) si nota palesemente come a basse frequenze, dove l'impedenza di Warburg domina, la pendenza di Z del diagramma è meno  $1/2$ . In questa regione, l'angolo di fase è di  $45^\circ$ . Alle frequenze più alte, la resistenza di trasferimento di carica domina l'angolo di fase e diventa quindi  $0^\circ$ .

### 2.2.5 Costant Phase Element



L'elemento a fase costante CPE (Costant Phase Element) rappresenta una relazione empirica introdotta per descrivere una dipendenza dalla frequenza  $f$  dall'impedenza di un elemento reale, causata dalla rugosità e disomogeneità delle strutture superficiali, in altre parole descrive un condensatore non ideale.

L'impedenza di un generico elemento di fase è calcolata nel seguente modo:

$$Z_{CPE}(j\omega) = \frac{1}{A(j\omega)^n} \quad (2.7)$$

Dove  $A$  è un appropriato fattore di proporzionalità.

Tale relazione è espressa in termini d'ammettenza  $Y_{CPE}$  diventa:

$$\frac{1}{Z_{CPE}} = Y_{CPE} = Y_0(j\omega)^n \quad (2.8)$$

Dove  $Y_0$  contiene il coefficiente di diffusione e le costanti chimico-fisiche che caratterizzano il materiale, mentre  $n$  è il cosiddetto "esponente di CPE"

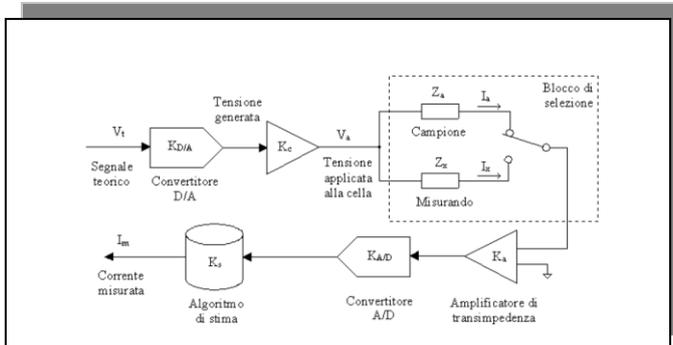
Più in dettaglio quest'ultimo parametro  $n$  può assumere valori entro il range  $[0,1]$ :

- Per  $0 \leq n < 0.5$  CPE si comporta come una resistenza
- Per  $n = 0.5$  CPE diventa l'elemento circuitale di Warburg già discusso prima
- Per  $0.5 < n \leq 1$  CPE si comporta come una capacità

Il concetto CPE è quindi applicabile a tutti gli elementi circuitali  $R, C, L, W$  visti finora, qualora si riscontri che tali elementi abbiano un'impedenza funzione della frequenza secondo un andamento che devia dal caso ideale.

## 2.3 Apparato Sperimentale

### 2.3.1 Apparato di misura



Per misurare l'impedenza  $Z$  è stato utilizzato l'impedenziometro *Solatron Instruments-SI1260*.

Tale apparecchio è in grado di eseguire automaticamente scansioni nel dominio della frequenza del segnale in corrente alternata inviato dallo strumento stesso. Il sistema, oltre a compiere misurazioni automatiche,

può interfacciarsi con un PC per la lettura e l'analisi delle misure stesse.

L'approccio usato dal costruttore del Solatron è quello ad elaborazione digitale con sistemi d'amplificazione del segnale e convertitori analogico digitali molto accurati.

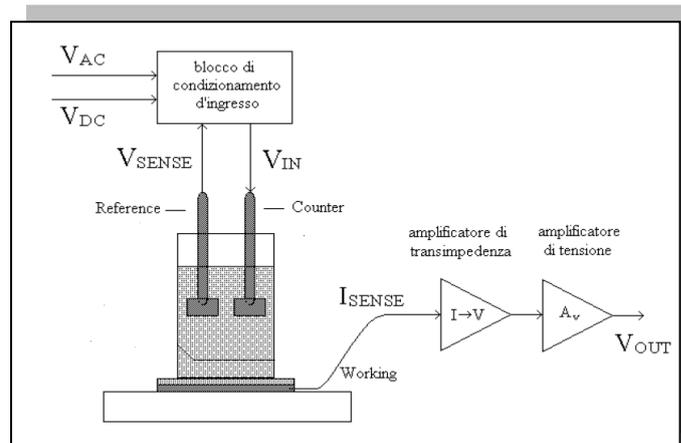
La fase di calibratura dello strumento è un passo fondamentale per una corretta misurazione scientifica e consiste nella rilevazione di un'impedenza nota in modo da determinare il guadagno equivalente dell'intera catena di misura. Si tenga però presente che i guadagni dei vari blocchi di misura dipendono in generale sia dalla frequenza sia dai vari fattori ambientali come ad esempio la temperatura. Un semplice schema a blocchi dell'apparato e della sua relativa calibratura è schematizzato nella figura qui a fianco.

Dove si nota, comunemente a ogni sistema di misura digitale, la presenza dei seguenti elementi :

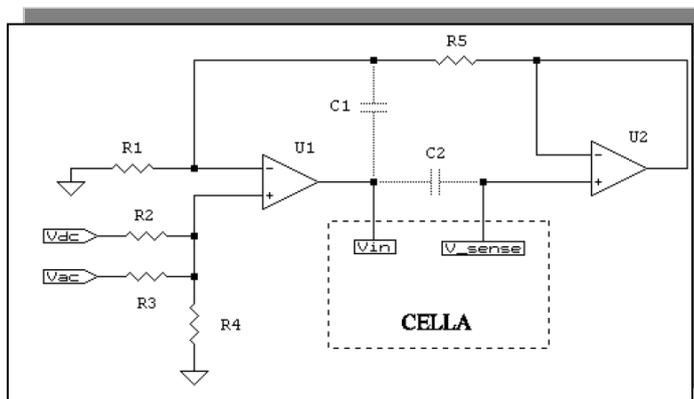
- **ADC:** per la conversione digitale del segnale analogico misurato.
- **Generatore di tensione.**
- **Amplificatore di transimpedenza.**
- **DAC:** per la conversione analogica del segnale campionato.
- **Un opportuno algoritmo di Stima:** per la determinazione del valore del fasore corrente da una sequenza di valori campionati dalla corrente stessa

### 2.3.2 Sistema di condizionamento

C'è da dire che la parte più importante di tutto il sistema è quella di condizionamento. Infatti, solo dopo di essa, avviene l'elaborazione vera e propria da parte del ADC che convertirà il segnale analogico in uno numerico e invierà i dati al PC collegato allo strumento. Esso consta di due circuiti.



#### 2.3.2.1 Il circuito di condizionamento d'ingresso:



Ha il compito di fornire la tensione alla cella a partire dal segnale dinamico e da quello in continua.

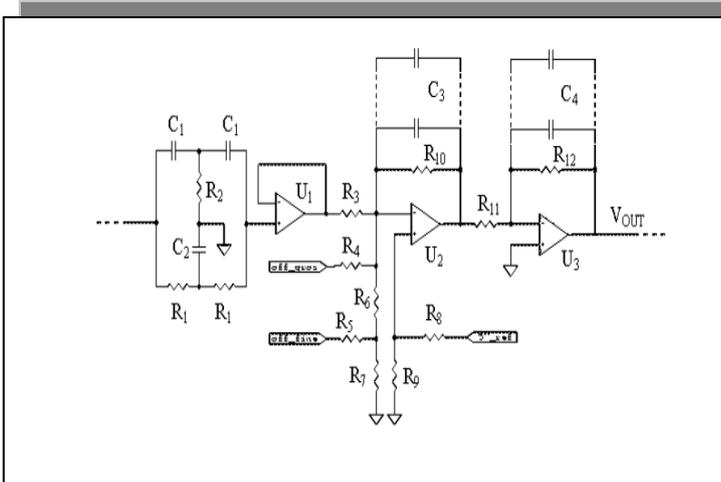
Esso è sostanzialmente costituito da un sommatore invertente, dove la retroazione non avviene nel modo classico, ma si utilizza il segnale proveniente dall'elettrodo *reference della cella elettrochimica*.

Così facendo si pone la resistenza della cella direttamente in serie a quella del primo operazionale ed il suo effetto viene praticamente annullato dalla retroazione negativa. Inoltre la presenza dei condensatori serve per rendere il sistema stabile evitando oscillazioni ad alta frequenza. Quello denominato C1 ha il compito di evitare che il ritardo introdotto dal operazionale U2 possa instaurare una retroazione positiva rendendo il sistema oscillante

### 2.3.2.2 Circuito di condizionamento d'uscita:

Esso è composto da due stadi di amplificazione:

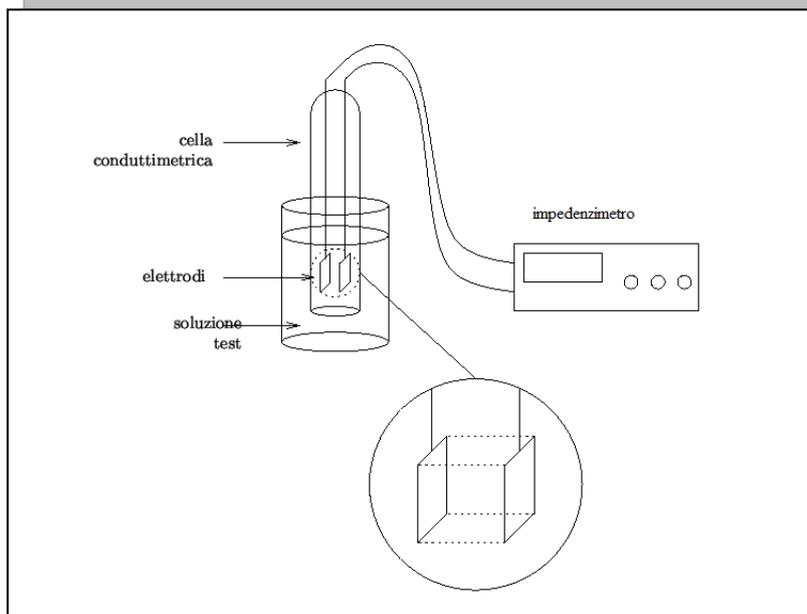
- a) **L'amplificatore di transimpedenza:** ha il compito di convertire la debole corrente da misurare in una tensione che verrà successivamente amplificata
- b) **Stadio a guadagno costante:** in modo da portare la dinamica del segnale tra 0.5 V e 5 V; si obbliga così l'amplificatore che lo precede a gestire tutti i cambi di scala.



Lo stadio finale dell'amplificatore deve perciò trasformare il segnale di pochi millivolt in un segnale di alcuni volt per poter essere correttamente campionato dall'ADC che invierà poi l'informazione al PC. Se ad esempio volessimo una tensione massima all'uscita dell'amplificatore di transimpedenza di 10mV volendo avere una dinamica finale di 5V, l'ultimo stadio deve avere un guadagno d'uscita pari a 500.

Non potendo ottenere un'amplificazione così elevata con un unico operazionale è ovvio pensare che il Solatron sia costituito da una cascata di almeno due stadi d'uscita. Il circuito di condizionamento deve inoltre annullare l'effetto sull'uscita dell'offset dei vari operazionali e quello introdotto dalla polarizzazione in continua. Inoltre per evitare disturbi particolarmente dannosi, derivati dalla tensione di rete a 50 Hz, lo strumento presenta a monte del sistema di amplificazione d'uscita un filtro elimina banda opportunamente accordato.

### 2.3.3 Cella conduttimetrica



Nel precedente paragrafo abbiamo analizzato in dettaglio gli aspetti funzionali dell'impedenziometro disinteressandoci della cella elettrochimica in cui avviene la misura.

Nell'analisi elettrochimica da laboratorio, le misure di conducibilità vengono eseguite all'interno di una opportuna cella che prende il nome di cella conduttimetrica. Essa è l'insieme che comprende gli elettrodi

attraverso i quali viene trasmessa al liquido la corrente di misura insieme, le parti isolanti che determinano la parte di soluzione percorsa dalla corrente di misura e infine le ulteriori parti (isolanti e non) che servono per l'unione meccanica di quelle principali, per la tenuta ermetica, per il collegamento al circuito esterno ecc.

Qualsiasi cella conduttimetrica è caratterizzata dalla propria costante di cella  $\frac{L}{S} (cm^{-1})$  o  $\frac{S}{L} (cm)$  la quale presenta diverse forme geometriche (piastre piane, cilindriche, a spirali o sferiche). Per forme geometriche relativamente semplici, la sezione attiva  $S$  del conduttore potrebbe essere calcolata dalla lunghezza, mentre nel caso fossimo in presenza di forme molto complicate bisognerebbe ricorrere ad un integrale.

Proprio a causa della geometria non ideale delle linee di corrente e nell'uso industriale di superfici conduttrici molto complesse è molto meglio determinare la costante di cella misurando la resistività  $R$  o la conduttanza  $G$  di una soluzione standard a costante di cella  $k$  nota con precisione (tipicamente si utilizzano soluzioni 1N o 0.1N o 0.01N di KCl) e ricavando  $\frac{L}{S} (cm^{-1})$  dalla relazione  $kR = \frac{L}{S}$  oppure  $\frac{k}{G} = \frac{L}{S}$ .

In letteratura si trovano tabulati tutti i valori di conduttività di soluzioni di KCl a diverse temperature e a diverse concentrazioni. Le costanti di cella  $k$  maggiormente usate sono 0.1 – 1.0 – 10.0 cm. Ovviamente quanto più basse sono le conduttanze da misurare, tanto più alti devono essere i valori delle costanti di cella impiegate. Un altro fattore importante per la misura di conduttività è la temperatura: convenzionalmente le misure si eseguono al 18,20,25 C°.

## 2.4 Elaborazione di due circuiti equivalenti

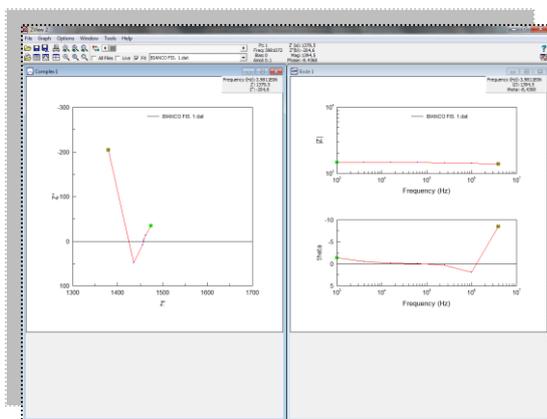
Dopo aver acquisito lo spettro di una soluzione fisiologica e dell'eluito ad essa corrispondente si è pervenuti alla creazione di due modelli circuitali equivalenti.

Il programma utilizzato è *ZView™* il quale, oltre a permettere la visualizzazione di grafici d'impedenza, incorpora un toolbox per descrivere lo spettro per mezzo di un circuito equivalente.

Il toolbox in questione utilizza un algoritmo di fitting del diagramma sia di *Bode* che di *Nyquist* sovrapponendo così una curva che abbia la migliore corrispondenza ad una serie di punti assegnati dallo spettro di impedenza, possibilmente soggetti a limitazioni. Le curve fitting possono in un certo qual modo implicare sia l'interpolazione, dove è richiesta un'esatta corrispondenza con i punti dati, sia lo spianamento, qualora si cerchi di costruire una funzione piana che combaci in modo approssimativo con i dati.

### 2.4.1 Il Graphical Editor

Il programma *ZView™* include inoltre un Editor grafico utilizzato per la costruzione del modello circuitali equivalente. È possibile utilizzare questo Editor per comporre circuiti abbastanza



**Rappresentazione in *ZView™* di uno spettro d'impedenza di una soluzione fisiologica**

complicati. Una volta creatone uno che, in modo approssimativo, rappresenti il sistema chimico da studiare, *ZView™* utilizza un algoritmo basato sul metodo dei minimi quadrati per adattare il modello circuitali, da noi costruito, ai dati sperimentali.

Questo programma cerca di minimizzare lo scarto tra lo spettro del modello e lo spettro di dati sperimentali.

Inoltre, l'algoritmo in questione, utilizza una tecnica di *Levenberg-Marquardt*, per regolare ulteriormente i

valori dei parametri dati di ogni singolo elemento circuitali alla curva d'impedenza sperimentale. I

dettagli matematici del processo di adattamento sono ben oltre la portata di questa tesi. Uno dei compiti più difficili di tutta la modellazione del circuito è la determinazione dei valori iniziali. Il programma d'ottimizzazione ha dunque bisogno di inizializzare i vari elementi circuitali con valori, spesso chiamati "valori d'inizializzazione", che ci serviranno in seguito per scrivere le equazioni di tutto il modello. Il problema dell'accuratezza della curva di fitting è proprio legato a questi valori d'inizializzazione: come si fa allora a stimarli? Servono una calcolatrice e una buona comprensione del comportamento degli elementi del circuito. Sostanzialmente, cerchiamo di trovare aree della curva dell'impedenza sperimentale, dove il nostro modello domina in frequenza, ad esempio, con un suo ipotetico elemento e calcolare così, in modo molto approssimativo, il valore di quell'elemento a quella singola frequenza. Una volta stabilito un modello, prima si stimano i valori di resistenza, si

consultano poi le regioni orizzontali del diagramma di Bode e si assegnano tali valori a resistenze individuali o a combinazioni di serie di resistenze. Si stima infine i valori degli elementi derivativi come i condensatori. Non bisogna cercare di essere troppo precisi quando si fanno queste stime, infatti, qualsiasi valore all'interno di un decimo del valore vero è un buon punto di partenza.

### 2.4.2 Best-fit di dati sperimentali

Molto spesso nel campo delle scienze applicate per comprendere fenomeni fisici non basta raccogliere buoni dati sperimentali ma occorre anche interpretarli. Questo implica che lo scopo di una misura non è solo quello di conoscere il valore di una certa quantità ma anche di trovare una funzione matematica che approssimi il più possibile i dati raccolti del tipo:

$$y = f(x, A, B, \dots, N) \quad (2.9)$$

dove gli A,B...N sono parametri in generale non noti. Il problema, nella fattispecie, consiste nel determinare dei valori dei parametri per cui la curva  $y = f(x)$  passi il più vicino possibile ai punti  $(x_i, y_i)$ . La curva così ottenuta prende il nome di Best-fit o curva di regressione dei minimi quadrati. Effettuare una regressione significa prendere in considerazione quelle differenze tra ordinata di punto e curva.

$$\delta y = y_i - f(x_i) \quad (2.10)$$

Minimizzando così la somma dei quadrati delle deviazioni  $\delta x_i$  delle ascisse

$$S_x(A, B, \dots, N) = \sum_{i=1}^n (x_i - f^{-1}(y_i))^2 \quad (2.11)$$

Il caso più importante è proprio quello in cui la relazione attesa tra la variabile x e y e quella di tipo lineare:

$$y = A + Bx \quad (2.12)$$

Riguardo la ricerca, o meglio, la stima della relazione (2.11) tra fenomeni attraverso un campione di osservazioni il modello:

$$Y_i = \alpha + \beta X_i + u_i \quad (2.13)$$

è composto da una parte deterministica  $Y_i = \alpha + \beta X_i$  e da una parte stocastica  $\mu_i$ . Questa natura stocastica del modello implica quindi che per ogni valore assunto dalla variabile X esiste un'intera distribuzione di probabilità di valori Y, e ciò significa che per ogni X non sarà possibile conoscere con certezza il valore Y. Questo accade per via della presenza della parte stocastica  $\mu_i$ , la quale essendo casuale conferisce il carattere di casualità anche a Y ; ragion per cui nella relazione (2.12), Y è una variabile casuale la cui distribuzione di probabilità e le sue caratteristiche sono determinate dai valori della X e della distribuzione di probabilità della  $\mu_i$ .

Con il metodo dei minimi quadrati, quindi, si ottiene la retta che meglio esprime la relazione  $Y_i = \alpha + \beta X_i$ . Le osservazioni raccolte costituiscono un campione con il quale si stimano i parametri della retta, ed essendo parametri stimati e non valori veri dei parametri si ottiene perciò la seguente retta stimata :

$$\hat{Y}_i = \hat{\alpha} + \hat{\beta}X_i \quad (2.14)$$

Utilizzando questo metodo si ottengono quelle stime dei parametri che rendono minimo il residuo o la deviazione e quindi rende minima la parte stocastica.

Dato perciò il modello di regressione (2.12 ) per via dei minimi quadrati si ottengono le stime di  $\alpha$  e di  $\beta$  cioè :

$$\hat{\beta} = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sum (x_i - \bar{x})^2} \quad \hat{\alpha} = \bar{y} - \hat{\beta} \cdot \bar{x} \quad (2.14)$$

e di conseguenza i valori di  $\hat{Y}_i = \hat{\alpha} + \hat{\beta}x_i$ .

Si considera poi la differenza tra i valori empirici e quelli di stimati:

$$e_i = Y_i - \hat{Y}_i \quad (2.15)$$

cioè la stima della parte stocastica  $\mu$  o i residui e si calcola l'errore di stima (SEE)

$$S_e^2 = \frac{\sum (Y_i - \hat{Y}_i)^2}{n-2} = \frac{\sum e_i^2}{n-2} \quad , \quad S_e = \sqrt{\frac{\sum e_i^2}{n-2}} \quad (2.16)$$

### 2.4.3 Best-fit con un Circuito equivalente

L'intento che ci poniamo ora è duplice, se da una parte vorremmo studiare le caratteristiche della soluzione fisiologica dopo il suo passaggio in resina, dall'altra ci sarebbe utile ottenere un modello alquanto approssimativo che simuli matematicamente il sistema: soluzione fisiologica - resina.

A tal proposito ho studiato i moduli e le fasi d'impedenza di una soluzione fisiologica caricata e non caricata prima e dopo il passaggio. Poi, per mezzo di un Best-fit con ZView™, ho trovato un semplice circuito equivalente che simuli il sistema.

Le prove sono state numerose; per tale motivo, ho deciso di apportare alcune restrizioni al dominio del modulo e della fase in cui vengono approssimati i dati sperimentali grazie a un Best-fit. Queste restrizioni sono dovute per lo più all'incertezza della misurabilità del sistema in analisi, infatti, soprattutto a valori di frequenza superiori a  $10^5$  (Hz) dove abbiamo piccole variazioni di fase; si denota, perciò, che la perfetta sovrapponibilità del modello sulle curve sperimentali in gioco non è determinabile con precisione.

Inoltre, un'approssimazione sempre più dettagliata delle curve d'impedenza, sia nel diagramma complesso che in quelli di Bode, ci porta ad una complicazione notevole del circuito equivalente e delle variabili da controllare, dunque a una restrizione del dominio della funzione del modello costruito ci aiuta ad avere così un maggior controllo del sistema.

Dato il legame tra digramma di Nyquist e di quello di Bode, ogni qual volta approssimo la curva di Nyquist, specularmente deve avvenire una approssimazione di quella di Bode, se non fosse ché, per avere una perfetta sovrapponibilità del modello, bisogna ottenere fitting dettagliato ma questo, tuttavia, come già detto poc'anzi, oltre a non tenere conto delle incertezze di misurabilità a valori di frequenza superiori a  $10^5$  (Hz), complica i parametri concreti del modello studiato.

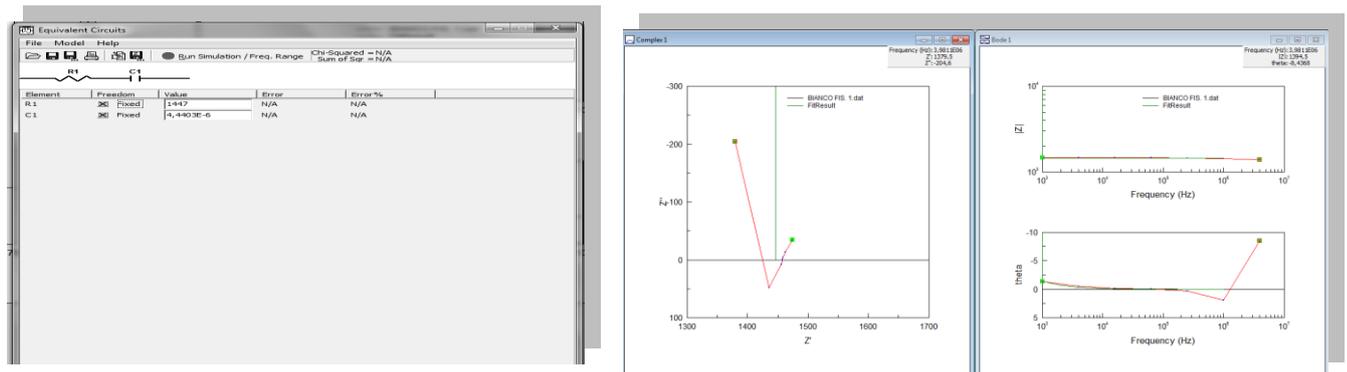
L'inizio della costruzione di questo circuito equivalente è avvenuto in cinque fasi:

- a) Inizialmente ho studiato la soluzione fisiologica non caricata per mezzo di semplici circuiti equivalenti;
- b) Per mezzo di un processo logico ricorsivo, ho compreso quali fossero gli elementi circuitali da comporre per avere una discreta approssimazione dell'impedenza in analisi;
- c) Ho costruito il circuito equivalente giustapponendo gli elementi scovati nel punto precedente;
- d) si sono corretti pian piano tutti i "valori di inizializzazione" come ad esempio: il valore delle resistenze, capacità ecc ;
- e) Infine, ho ottenuto il modello circuito equivalente di una soluzione fisiologica carica per semplice traslazione nel piano complesso della curva di fitting di quella non carica.

### 2.4.3.1 Best-fit dell'impedenza di una Soluzione fisiologica con semplici circuiti

Come già detto in precedenza, cercherò ora di modellare uno spettro d'impedenza della soluzione fisiologica pura partendo da semplici modelli.

#### 2.4.3.1.1 Serie tra una resistenza e un condensatore

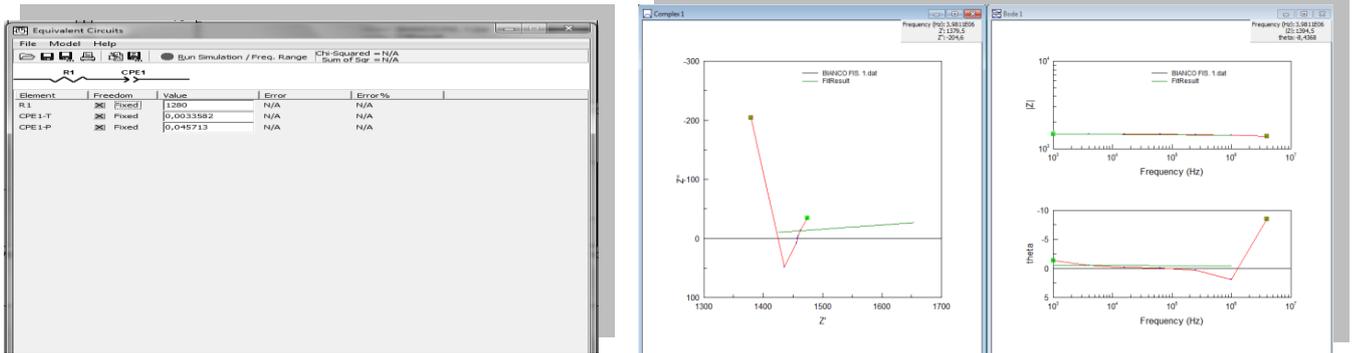


**Verde:** *Curva di Best-fit*

**Rossa :** *Curva d'impedenza*

Da queste figure si può notare l'inefficacia di questo circuito, costituito da una serie tra una resistenza  $R$  e un condensatore  $C$ , in quanto l'approssimazione dello spettro d'impedenza, sia nel diagramma di Nyquist che quello di Bode, è non ottimale. Infatti, il Best-fit di questo modello è dato da una retta verticale, nel diagramma complesso di colore verde: nessun risultato significativo.

### 2.4.3.1.2 Serie tra una resistenza e un CPE

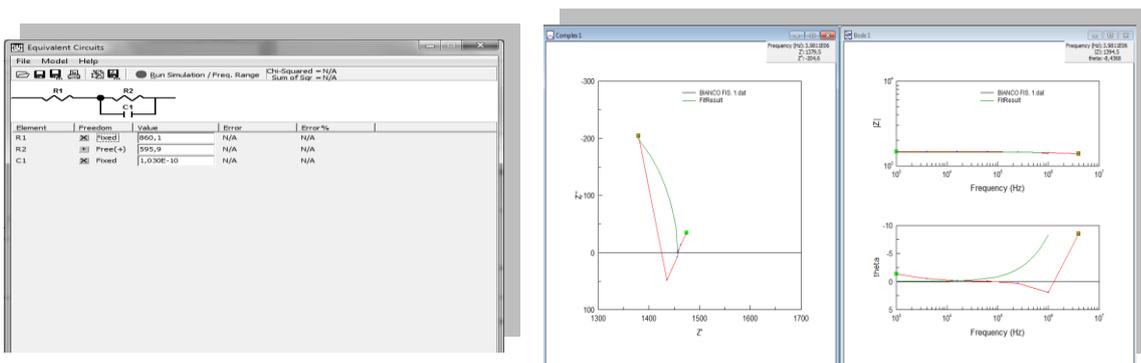


Verde: *Curva di Best-fit*

Rossa: *Curva d'impedenza*

Ho provato allora a sostituire il condensatore C con un elemento CPE il quale teoricamente dovrebbe tenere in maggior considerazione di disomogeneità della sostanza da misurare. Come si nota anche in questo caso l'approssimazione dello spettro è data da una banale retta semi verticale di colore verde: nessun risulta significativo.

### 2.4.3.1.3 Serie di una resistenza con un parallelo tra un condensatore con un'altra resistenza

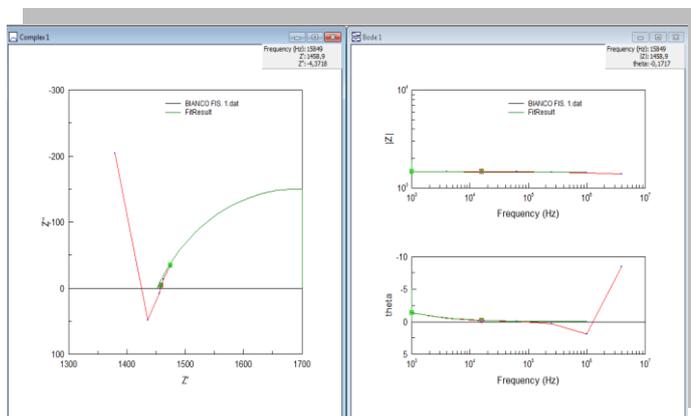
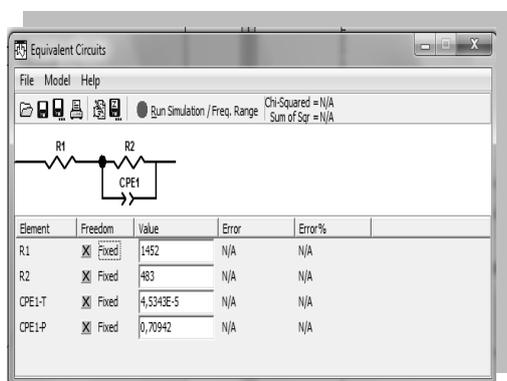


Verde: *Curva di Best-fit*

Rossa: *Curva d'impedenza*

Accortomi dell'inconsistenza della prime due prove ho deciso perciò di utilizzare una serie di una resistenza R1 con un parallelo tra un condensatore C e un'altra resistenza R2. Questo mi ha prodotto un Best-fit del diagramma con una spezzata che potrebbe essere definita una "scarsa approssimazione delle alte frequenze". Come è mostrato nel diagramma di Nyquist dalla retta verde dato dal fitting del circuito in questione.

### 2.4.3.1.4 Serie di una resistenza con un parallelo tra un CPE con un'altra resistenza

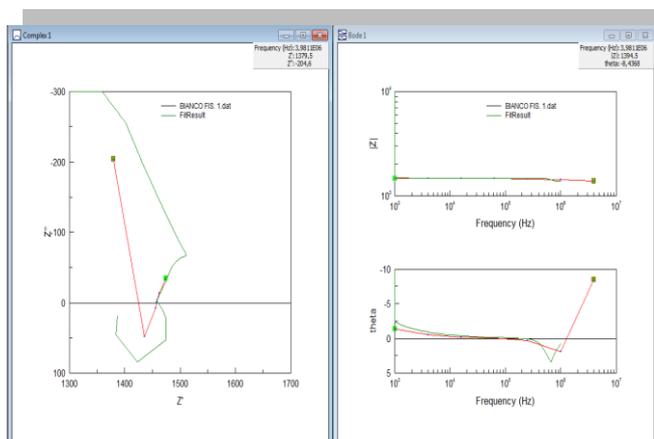
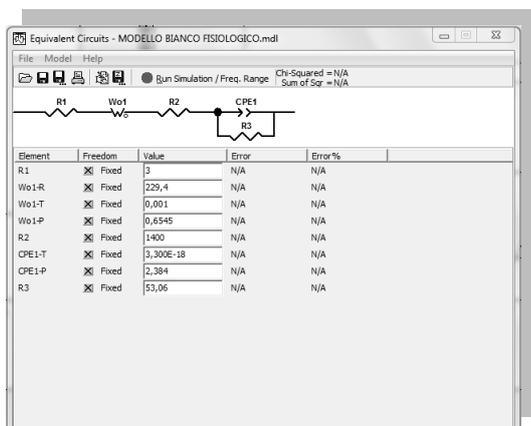


Verde: Curva di Best-fit

Rossa: Curva d'impedenza

Ho provato quindi a sostituire il condensatore C con un elemento CPE ottenendo quindi una serie di una resistenza con un parallelo tra un CPE con un'altra resistenza. Questa sostituzione mi ha permesso di capire che un circuito equivalente così costruito mi permette di definire una "scarsa approssimazione delle basse frequenze". Com'è mostrato nel diagramma di Nyquist dalla semi curva verde dato dal fitting del circuito in questione.

### 2.4.3.1.5 Serie tra: Resistenza, Impedenza di Warburg, Resistenza e Parallelo resistenza - CPE

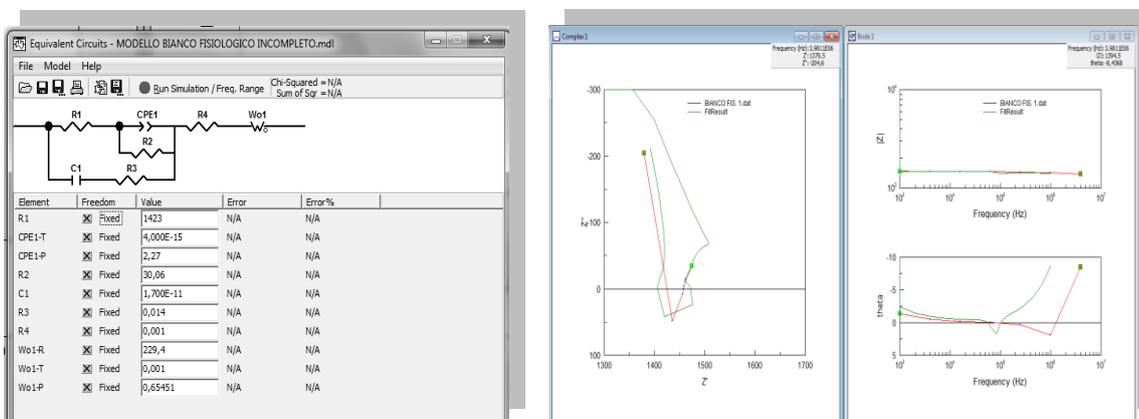


Verde: Curva di Best-fit

Rossa: Curva d'impedenza

Mi è venuta quindi l'iniziativa di comporre due circuiti assieme ovvero una serie tra una resistenza R1 e un'impedenza di Warburg, un'altra serie tra una resistenza R2 e un parallelo con un CPE e una resistenza R3. Questa nuova soluzione mi ha permesso perciò di capire che un circuito equivalente così composto mi permette di definire una "scarsa approssimazione delle basse e medie frequenze". Com'è mostrato nel diagramma di Nyquist dalla curva verde dato dal fitting del circuito in questione.

### 2.4.3.1.6 Circuito equivalente finale della fisiologica non caricata



**Verde:** Curva di Best-fit

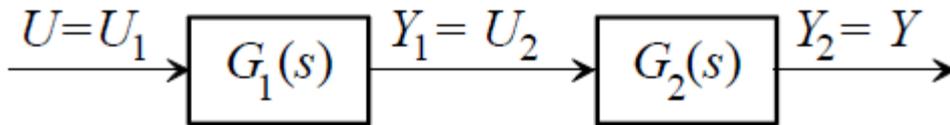
**Rossa:** Curva d'impedenza

Il circuito equivalente finale è dato dalla composizione dei tre circuiti equivalenti che mi approssimavano rispettivamente: alte, medie, basse frequenze. Ovviamente il circuito può essere inoltre trattato come un modello I/O avente una sua funzione di trasferimento e in quanto tale possiede un'algebra degli schemi a blocchi in particolare: sistemi a cascata simulano la serie tra due funzioni di trasferimento; sistemi in parallelo simulano il parallelo di due funzioni di trasferimento.

#### 2.4.3.1.6.1 Sistemi a cascata

Due sistemi si dicono in cascata (o serie) se l'uscita di uno è l'ingresso dell'altro.

Graficamente si ha la seguente situazione



La funzione di trasferimento dell'ingresso del primo sistema all'uscita del secondo si ottiene come segue:

$$Y(s) = Y_2(s) = G_2(s)U_2(s) = G_2(s)Y_1(s) = G_2(s)G_1(s)U_1(s) = G_2(s)G_1(s)U(s) \quad (2.17)$$

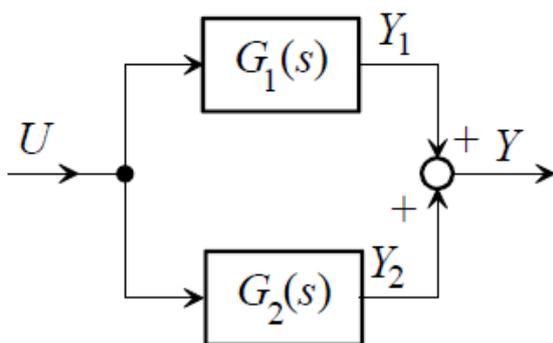
Pertanto otteniamo:

$$\frac{Y(s)}{U(s)} = G_1(s)G_2(s) \quad (2.18)$$

#### 2.4.3.1.6.2 Sistemi in parallelo

Due sistemi si dicono in parallelo se hanno lo stesso ingresso, mentre le loro uscite si sommano (algebricamente) per determinare l'uscita del sistema risultante.

Graficamente si ottiene la seguente situazione:



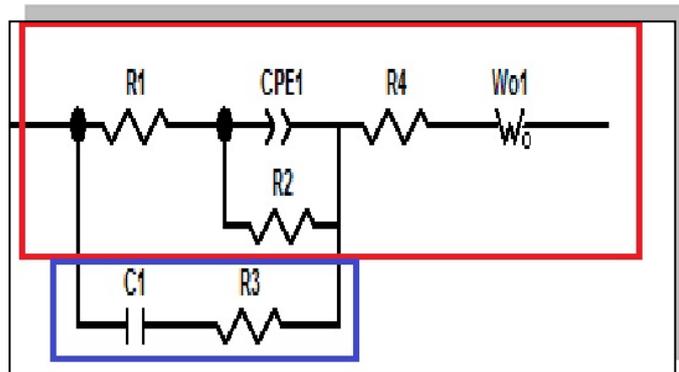
La funzione di trasferimento si ottiene come:

$$Y(s) = Y_1(s) + Y_2(s) = G_1(s)U(s) + G_2(s)U(s) = [G_1(s) + G_2(s)]U(s) \quad (2.19)$$

Pertanto otteniamo:

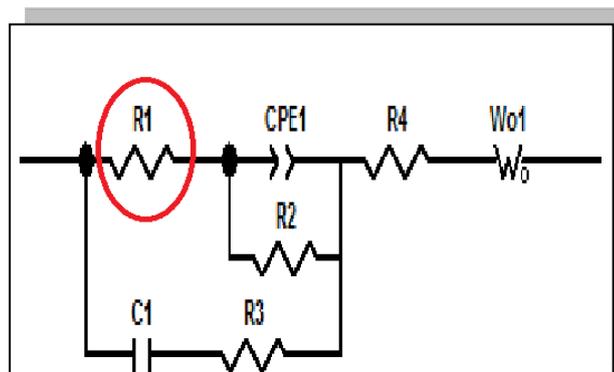
$$\frac{Y(s)}{U(s)} = G_1(s) + G_2(s) \quad (2.19)$$

L'aggiunta al circuito selezionato in rosso in figura di una serie di un condensatore C1 con una resistenza R3, selezionata in blu, mi ha permesso di approssimare contemporaneamente medie alte e basse frequenze.

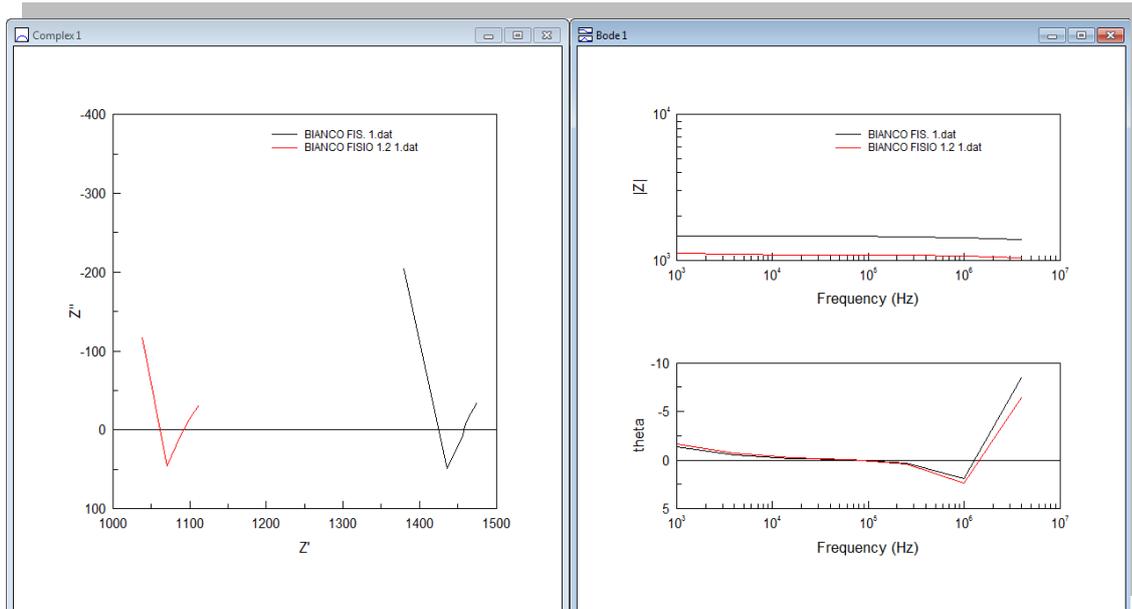


#### 2.4.3.2 Derivazione di un circuito equivalente per una soluzione Fisiologica caricata

Cerchiamo ora di costruire un circuito equivalente per una soluzione fisiologica caricata ma sarebbe più preciso dire derivare, in quanto esso è ottenuto dalla traslazione nel piano complesso della curva di Nyquist poiché la soluzione, essendo più conduttiva, avrà un modulo d' impedenza più basso rispetto alla soluzione fisiologica non caricata.



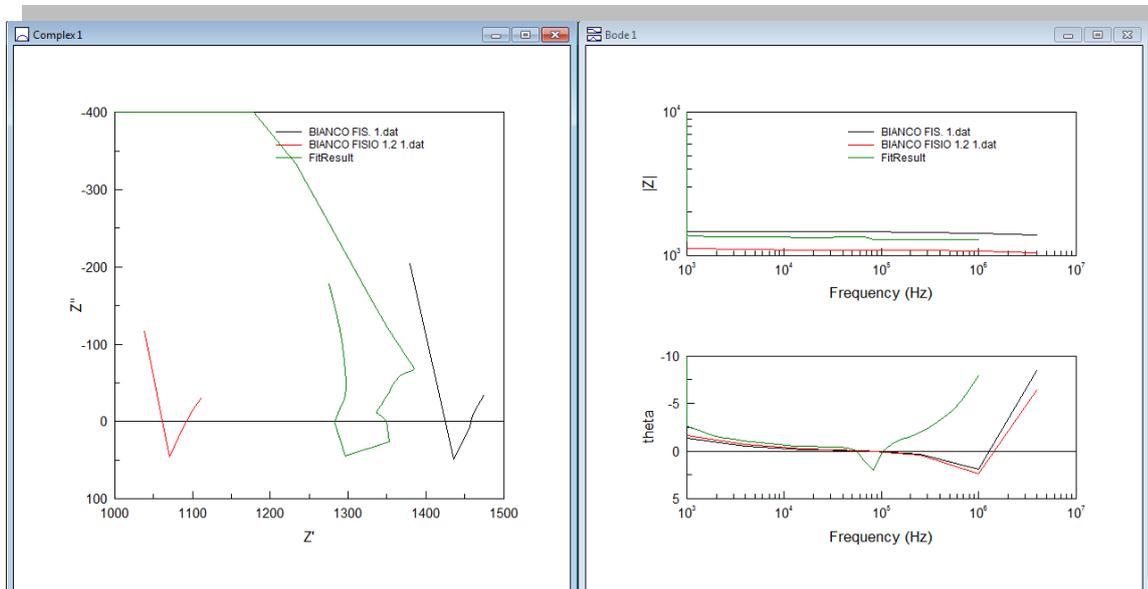
Questo si ottiene facendo variare la resistenza R1 per valori d'impedenza inferiori a 1423 KOhms come notiamo nella figura sottostante abbiamo due grafici di impedenza distanziati:



Nero: fisiologica non caricata

Rossa: fisiologica caricata

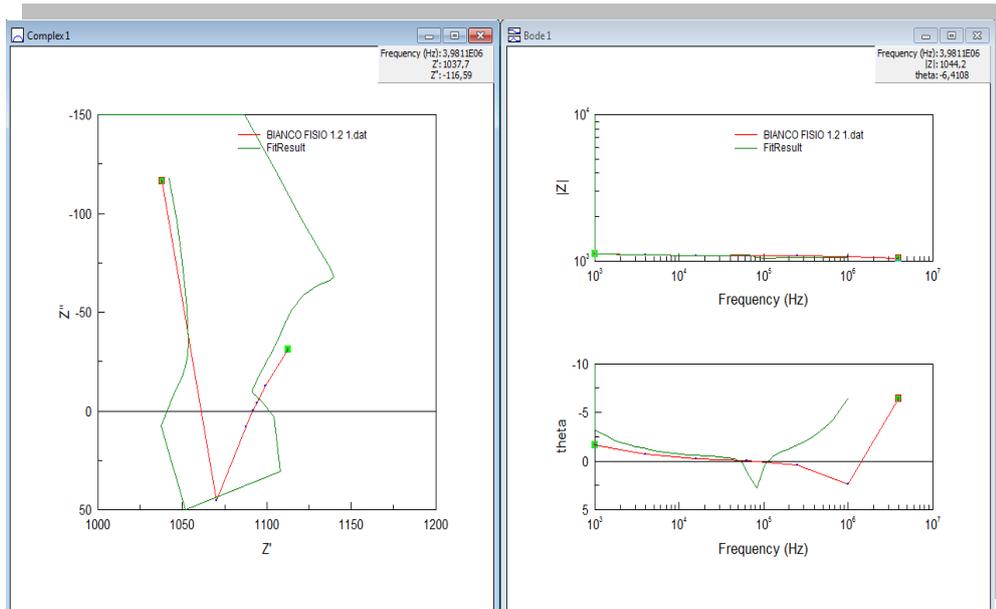
Se ora facciamo assumere a R1 valori inferiori a 1423 KOhms della asse reale del piano complesso, per esempio 1300 KOhms , osserveremo una traslazione del modello (in verde) a tali valori infatti:



Nero: *fisiologica non caricata*

Rossa : *fisiologica caricata*

Ponendo quindi R1 a 1055 KOhms otteniamo una quasi perfetta sovrapposizione del modello della fisiologica non caricata con quella caricata.

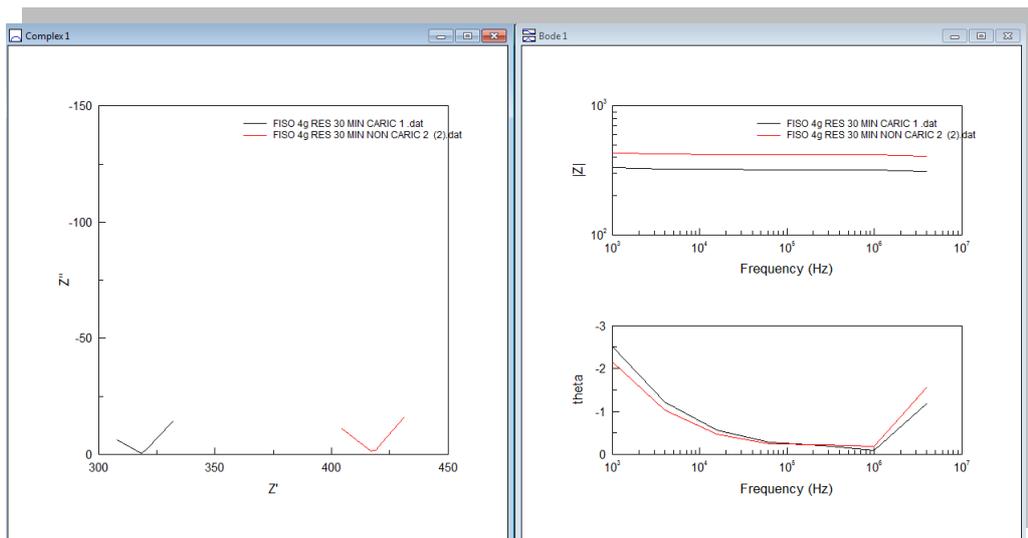


Verde: *Curva di Best-fit*

Rossa: *Curva d'impedenza*

### 2.4.3.3 Best-fit dell'impedenza di una Soluzione fisiologica più resina con semplici circuiti

Dopo aver messo a mescolamento per 30 minuti la soluzione ,prima non caricata e poi caricata, con la resina DOWEX G-26, ne estraiamo l'eluato in seguito alla due misurazione abbiamo i seguenti spettri;



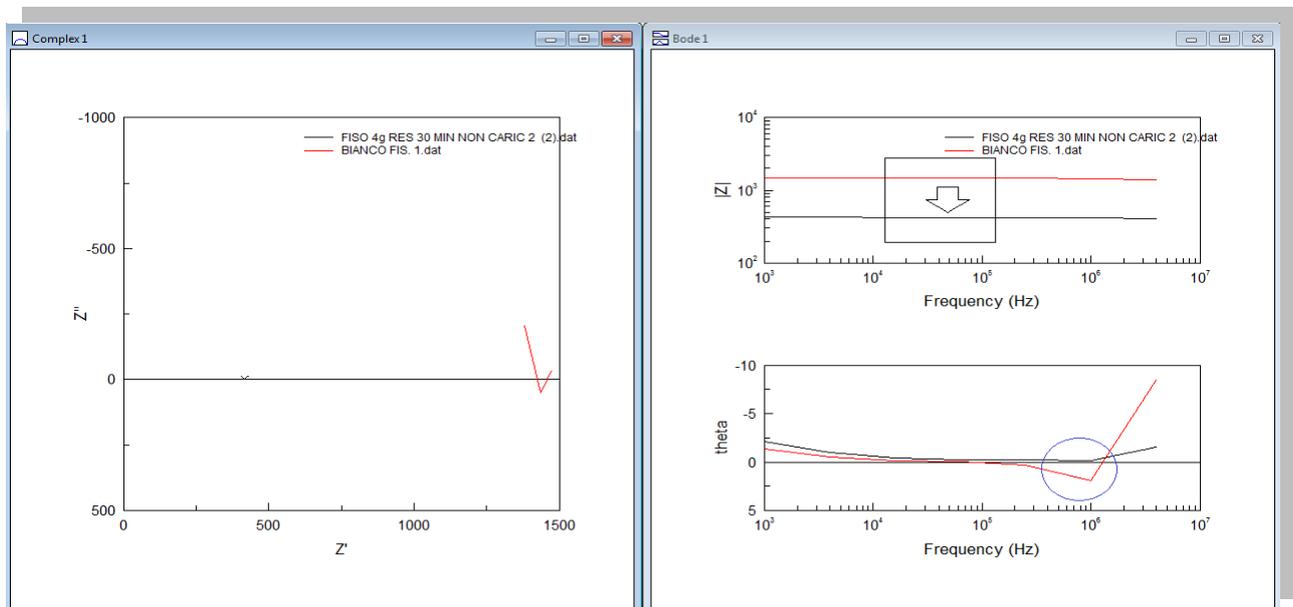
Rosso: *eluato non carico*

Nero: *eluato carico*

Come si nota, una volta trovato il modello che approssima abbastanza discretamente l'impedenza sperimentale misurata dopo l'estrazione dell'eluuto di una *soluzione fisiologica non carica* in mescolamento per 30 minuti con resina DOWEX G-26, possiamo ottenere il modello dell' eluito estratto da una *soluzione fisiologica carica* in mescolamento per 30 minuti con la stessa resina, semplicemente effettuando una traslazione nel piano complesso.

Prima di iniziare l'analisi del modello è utile fare qualche breve analisi sugli spettri ottenuti dopo il processo di mescolamento tra fisiologica e resina.

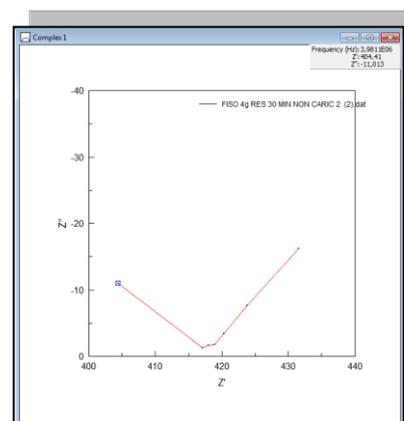
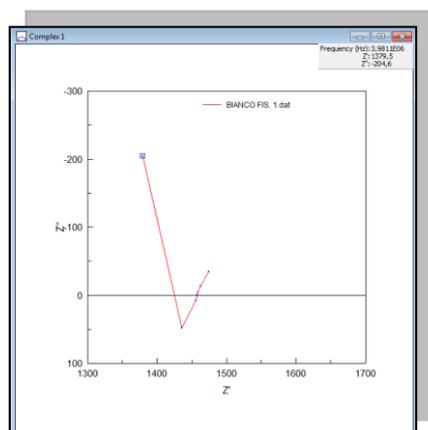
A differenza di quelli precedenti osserviamo che la fase non scende a valori negativi, questo ci fa supporre che la principale, se non la sostanziale differenza, tra uno spettro di una fisiologica pura (carica o non carica) e uno spettro della stessa fisiologica ma dopo essere stata mescolata con la resina, è proprio nella fase stessa. Confrontiamo,sovrapponendoli, per maggior chiarezza, due spettri: una fisiologica pura e poi successivamente la stessa fisiologica dopo il mescolamento in resina.



**Rosso:** *fisiologica non carica*

**Nero:** *eluuto della fisiologica non carica in mescolamento per 30 minuti con resina DOWEX G-26*

Come si può notare dopo il mescolamento con la resina DOWEX G-26, il modulo dell'impedenza scende e contemporaneamente la fase subisce un innalzamento, quest'innalzamento modifica pesantemente la forma dello spettro nel piano complesso come notiamo in figura qui sotto:

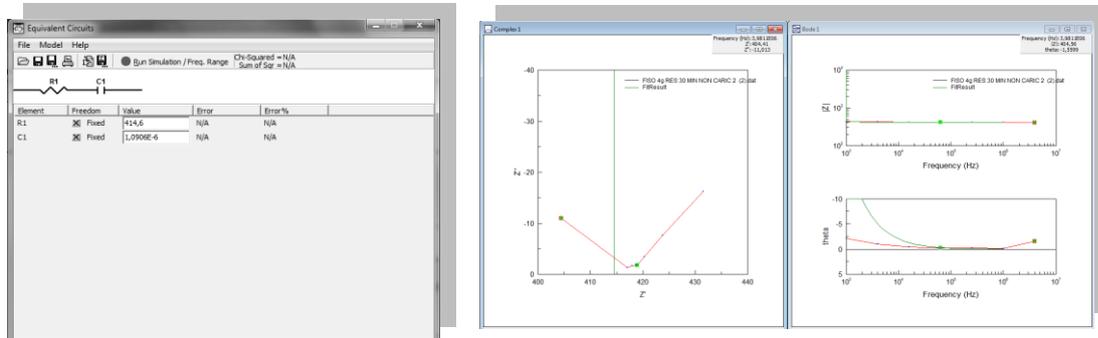


Nella figura a sinistra abbiamo lo spettro rappresentato nel diagramma complesso di una soluzione fisiologica non caricata. La figura a destra, invece, rappresenta lo spettro, sempre nel piano complesso, di una soluzione non caricata dopo il mescolamento in resina. Dato che il diagramma complesso è più indicativo del diagramma di Bode, poiché unisce contemporaneamente modulo e fase, è facile capire che il nocciolo del problema, ovvero le trasformazioni chimico fisiche che la soluzione subisce dopo il mescolamento in resina, sta proprio nella trasformazione di questi due digrammi di Nyquist.

Anche in questo caso l'inizio della costruzione di un circuito equivalente avviene in cinque fasi:

- a) Inizialmente ho studiato l'eluito non carico per mezzo di semplici circuiti equivalenti;
- b) Per mezzo di un processo logico ricorsivo, ho compreso quali fossero gli elementi circuitali da comporre per avere una discreta approssimazione dell'impedenza in analisi;
- c) Ho costruito il circuito equivalente giustapponendo gli elementi scovati nel punto precedente;
- d) Si sono corretti i parametri di inizializzazione nel sistema come ad esempio: il valore delle resistenze, capacità ecc per adattarlo al fitting statistico;
- e) Infine ho ottenuto il modello circuito equivalente di un eluito carico per semplice traslazione nel piano complesso della precedente curva di fitting dell'eluito non carico.

### 2.4.3.3.1 Serie tra una resistenza e un condensatore

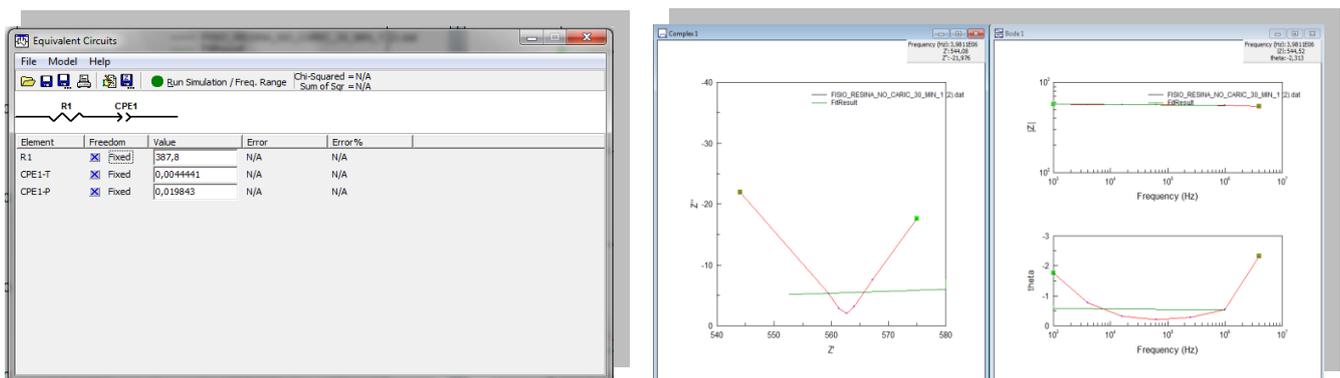


Verde: *Curva di Best-fit*

Rossa: *Curva d'impedenza*

Da queste figure si può notare l'inefficacia di questo circuito, costituito da una serie tra una resistenza R e un condensatore C, in quanto l'approssimazione dello spettro d'impedenza, sia nel diagramma di Nyquist che quello di Bode, è non ottimale. Infatti, il Best-fit di questo modello è dato da una retta verticale, nel diagramma complesso, di colore verde: nessun risultato significativo.

### 2.4.3.3.2 Serie tra una resistenza e un CPE

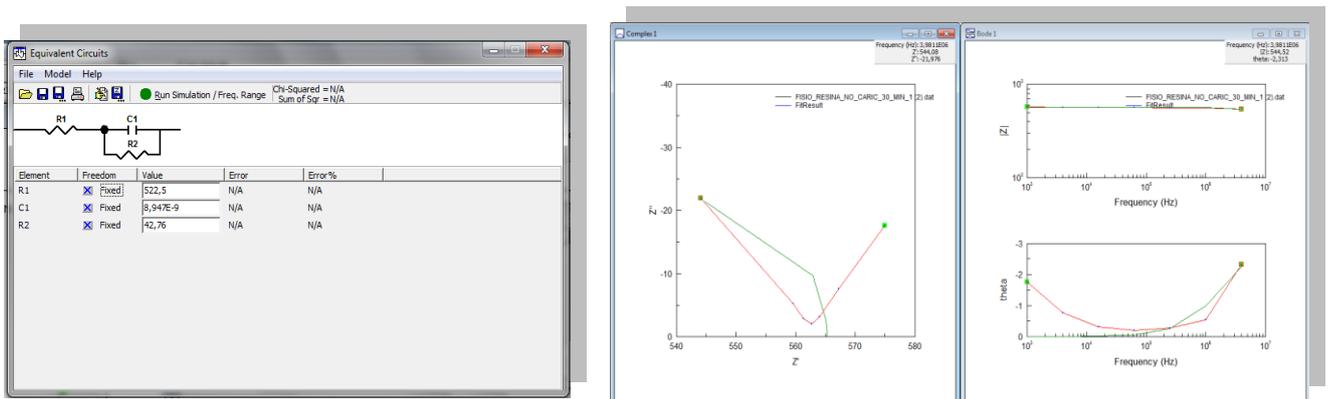


Verde: *Curva di Best-fit*

Rossa: *Curva d'impedenza*

Ho provato, come caso già visto per la soluzione fisiologica non passata in resina, a sostituire il condensatore C con un elemento CPE il quale teoricamente dovrebbe tenere in maggior considerazione della disomogeneità della sostanza da misurare; ma come si nota anche in questo caso l'approssimazione dello spettro è data da una banale retta semi verticale di colore verde: nessun risulta significativo.

### 2.4.3.3.3 Serie di una resistenza con un parallelo tra un condensatore con un'altra resistenza

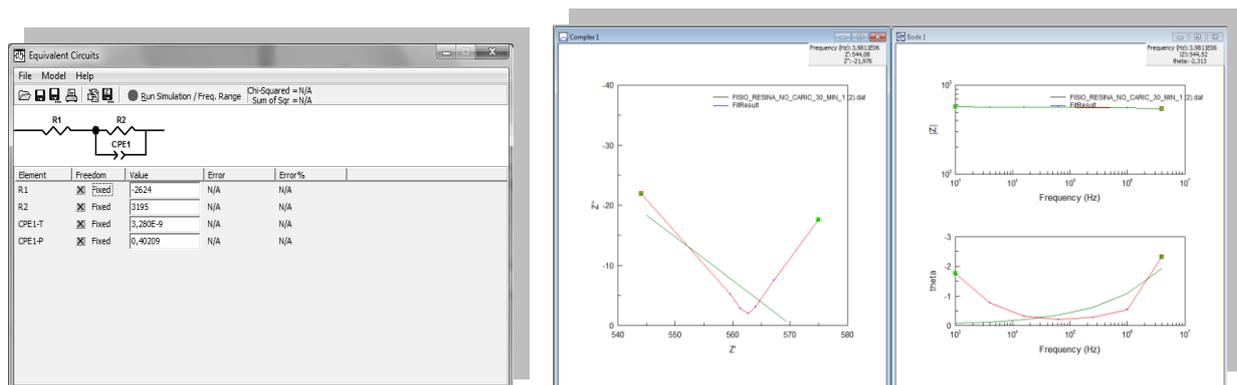


Verde: *Curva di Best-fit*

Rossa: *Curva d'impedenza*

Accortomi dell'inconsistenza delle prime due prove ho deciso perciò di utilizzare una serie di una resistenza R1 con un parallelo tra un condensatore C e un'altra resistenza R2, questo mi ha prodotto un Best-fit del diagramma con una spezzata che potrebbe essere definita una "scarsa approssimazione delle alte frequenze". Com'è mostrato nel diagramma di Nyquist dalla retta verde dato dal fitting del circuito in questione.

### 2.4.3.3.4 Serie di una resistenza con un parallelo tra un CPE con un'altra resistenza

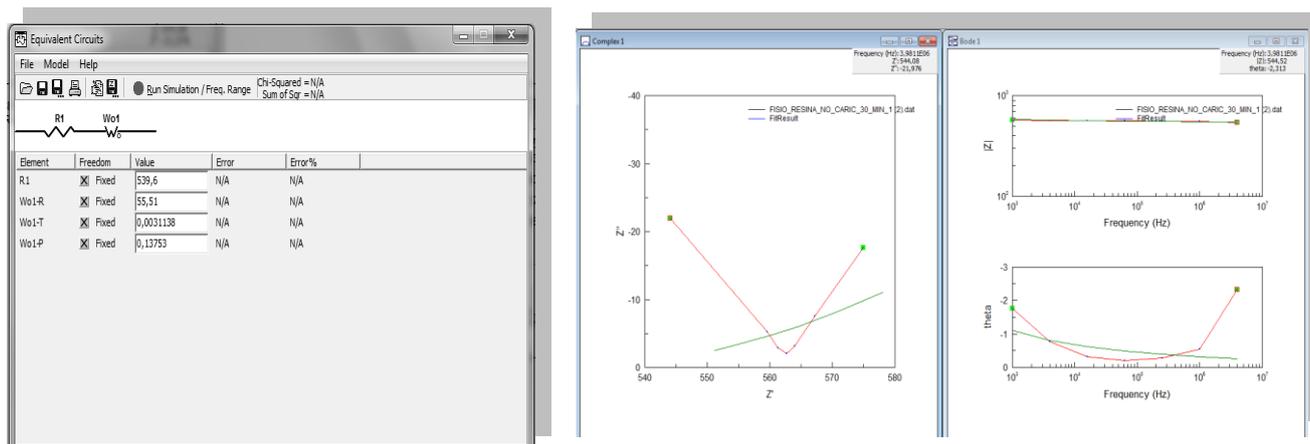


Verde: *Curva di Best-fit*

Rossa: *Curva d'impedenza*

Ho provato quindi a sostituire il condensatore C con un elemento CPE ottenendo quindi una serie di una resistenza con un parallelo tra un CPE con un'altra resistenza, questa sostituzione mi ha permesso di capire che un circuito equivalente così costruito, stranamente a quanto succedeva per una soluzione fisiologica, non mi dà una "scarsa rappresentazione delle basse frequenze" ma bensì approssima le alte frequenze in modo migliore di quanto fa il circuito precedente con un condensatore al posto del CPE.

#### 2.4.3.3.5 Serie di una resistenza con un'impedenza di Warburg



Verde: *Curva di Best-fit*

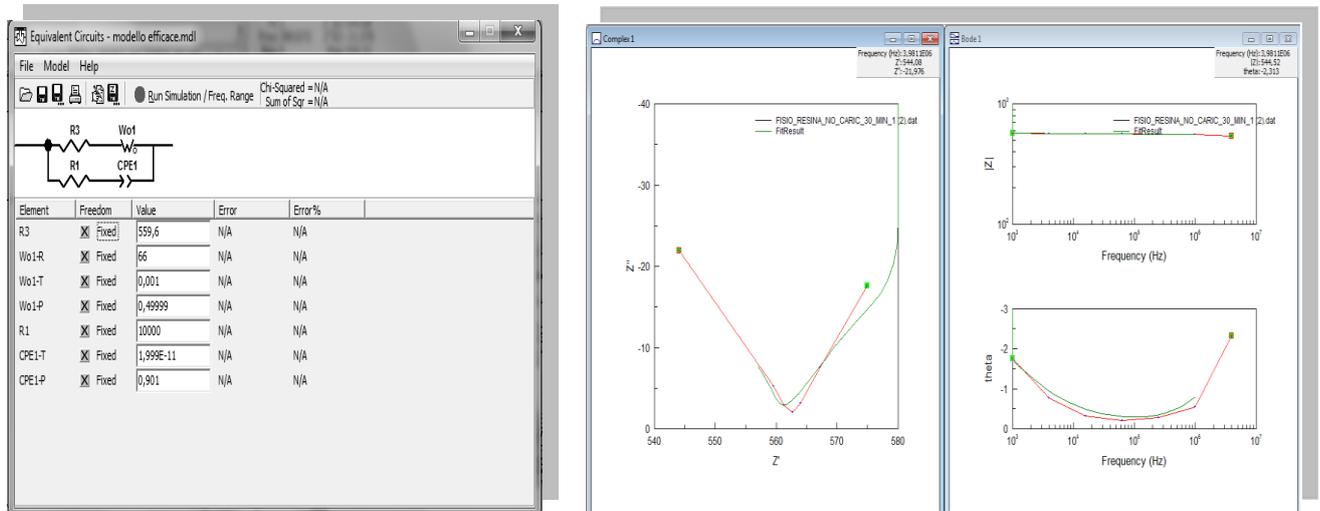
Rossa: *Curva d'impedenza*

Mettendo in serie una resistenza con un'impedenza di Warburg, otteniamo invece una retta che approssima molto grezzamente le basse frequenze, possiamo quindi definire questo modello come una "scarsa rappresentazione delle basse e medie frequenze".

#### 2.4.3.3.6 Circuito equivalente finale dell'eluito non caricato

Dai due modelli visti poc'anzi possiamo costruire il nostro modello che approssima l'impedenza dell'eluito uscente dal mescolamento, per 30 minuti, della soluzione fisiologica con la resina DOWEX G-26. Il primo modello, descritto dal sottoparagrafo 2.4.3.3.4 approssima le basse

frequenze, mentre il secondo, descritto invece nel sottoparagrafo 2.4.3.3.5, approssima le medie e le alte frequenze.



**Verde:** *Curva di Best-fit*

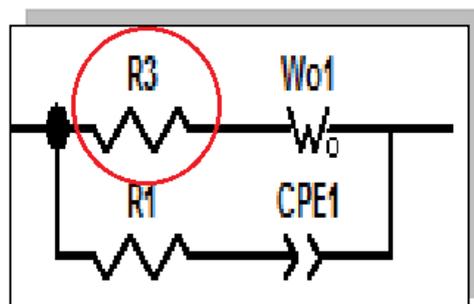
**Rossa:** *Curva d'impedenza*

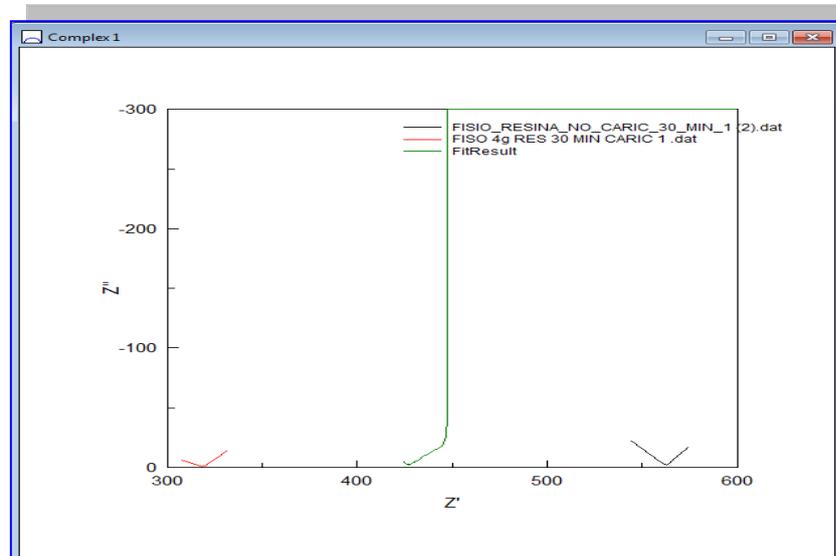
Da come si nota in figura esso è ottenuto dal parallelo di due serie di circuiti: la prima serie è data dall' una di una resistenza R3 con un impedenza di Warburg, mentre la seconda da una serie con un'altra resistenza R1 e una CPE.

### 2.4.3.3.7 Derivazione di un circuito equivalente per un eluito carico

Anche qui, come abbiamo già fatto nel modello di una fisiologica non carica, possiamo derivare il modello dell'eluito caricato, con una semplice traslazione nel piano complesso, questo consiste, quindi, a far variare il valore della resistenza R3.

Dalla figura qui sotto, infatti, osserviamo che facendo corrispondere ad R3 valori inferiori a 559,6 KOhms dell' asse reale del piano complesso osserviamo una traslazione del modello verso sinistra fino ad una completa sovrapposizione con la curva d'impedenza dell' eluito carico.



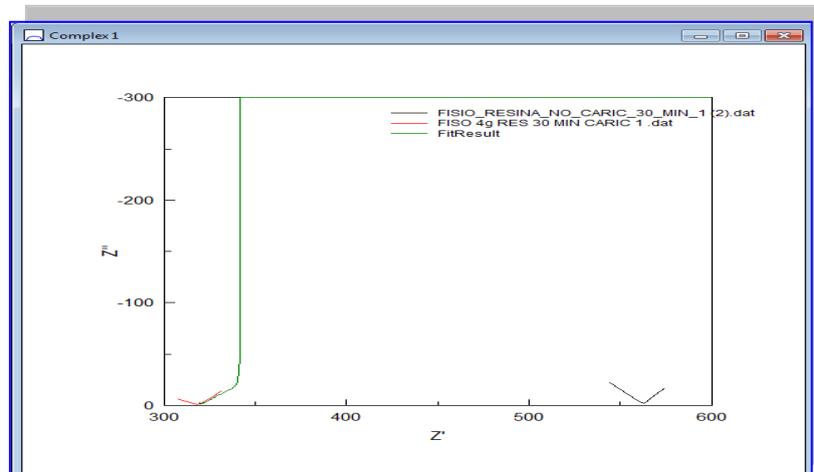


Nero: *eluito non carico*

Rosso: *eluito caricato*

Verde: *curva di Best-fit*

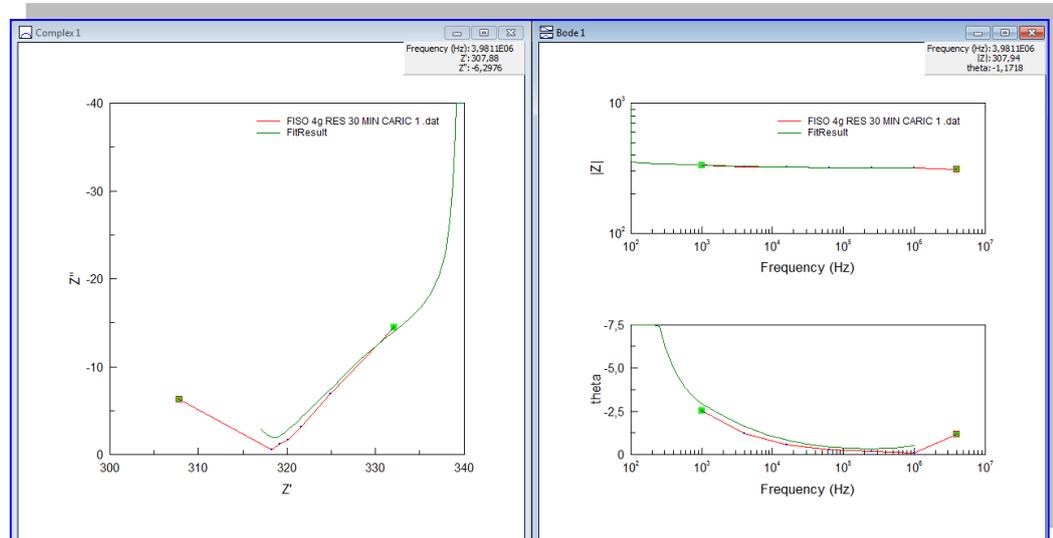
Se ora ad R3 assegniamo il valore di 317,5 KOhms abbiamo una completa sovrapposizione del modello con l'eluito caricato.



Nero: *eluito non carico*

Rosso: *eluito caricato*

Verde: *curva di Best-fit*



## 2.5 Interpretazione fisica dei Modelli

Nei precedenti paragrafi abbiamo trovato due modelli circuitali: il primo approssima le curve d'impedenza della fisiologica pura non carica e di quella caricata. Il secondo, invece, approssima rispettivamente gli spettri dell'eluito dapprima ottenuto dal mescolamento di una resina DOWEX G-26 con una soluzione fisiologica pura poi con quella caricata.

In questi due modelli circuitali sono stati inoltre determinati i cosiddetti parametri d'inizializzazione che mi permettono, quindi, di inizializzare valori come ad esempio la capacità  $C$  di un condensatore oppure la resistenza  $R$  di un resistore; valori legati quindi a quei elementi che sono costitutivi dei modelli stessi. Abbiamo capito, inoltre, come questi modelli sottostanno a un principio di generalizzazione; infatti, oltre ad approssimare uno spettro d'impedenza di una soluzione fisiologica pura, la quale ricordiamo è composta cloruro di sodio 0,9%, acqua sterile q.b. a 100 ml, approssima spettri di soluzioni fisiologiche "caricate" ovvero, ad esempio, dopo l'aggiunta progressiva 0,1g di NaCl alla soluzione fisiologica pura. Questa approssimazione degli "spettri caricati" è ottenuta facendo variare la quantità della resistenza  $R$  di una specifica resistenza di ambo i due modelli (uno che modella la fisiologica carica l'altro invece che modella l'eluito non carico).

I parametri, quindi, che caratterizzano i nostri due modelli circuitali, sono:

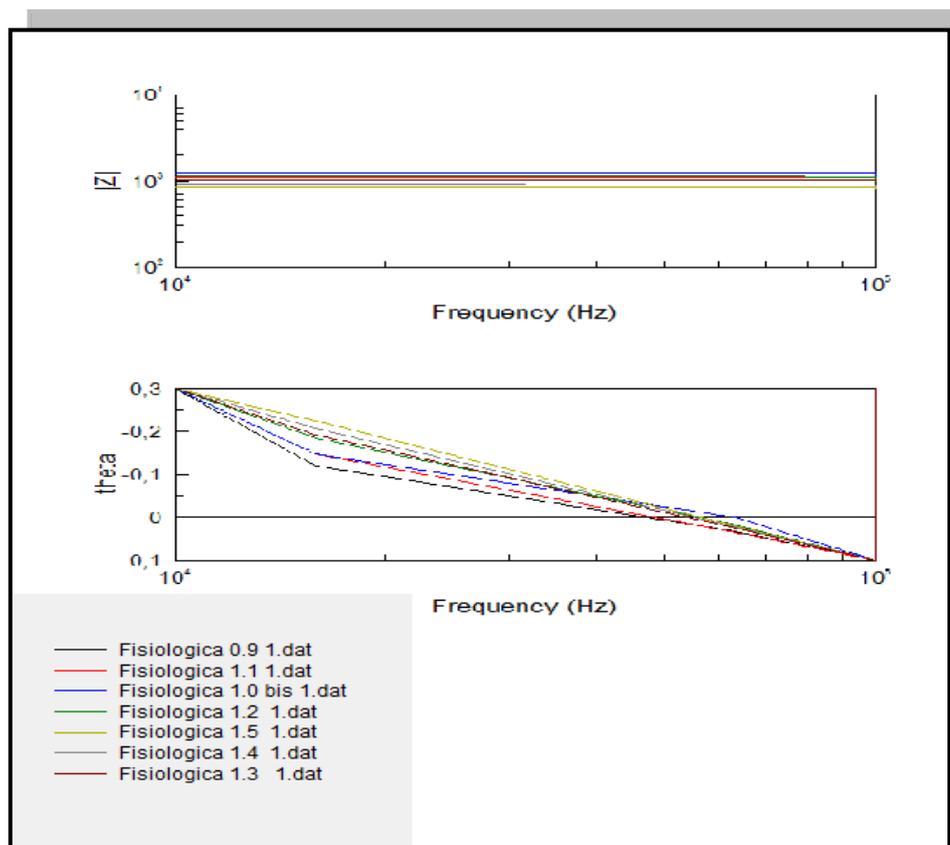
- a) *La resistenza dell'elettrolita* che dipende dalla concentrazione ionica, dal tipo di ioni, dalla temperatura e dalla geometria del sistema
- b) *La formazione del doppio strato elettrico* che si forma all'interfaccia tra l'elettrodo e la soluzione. Si assiste a una separazione di carica tra l'elettrodo e la soluzione con la formazione di uno o più condensatori (semplici o a fase costante) la cui capacità dipende dal materiale con il quale è formato l'elettrodo, la composizione della soluzione e della superficie reale dell'area elettronica
- c) *Le resistenze al trasferimento di carica* tra la superficie dell'elettrodo e la soluzione
- d) *L'impedenza di Warburg* dovuta ai processi diffusivi e che dipende dal segnale d'eccitazione. A frequenze elevate essa è piccola a causa dell'inerzia della specie diffondenti, a bassa frequenza si ha un aumento dell'impedenza a causa del moto ionico. L'impedenza di diffusione compare solo a correnti elevate, quando il trasporto di carica ionico si fa rilevante.

### 2.5.1 Conduttività Ionica e Resistenza dell'elettrolita

Abbiamo compreso, in corso delle sperimentazioni, che i valori d'impedenza, man mano che veniva caricata la soluzione fisiologica pura, di 0,1 g di NaCl scendevano; come mostrato dalla tabella qui sotto:

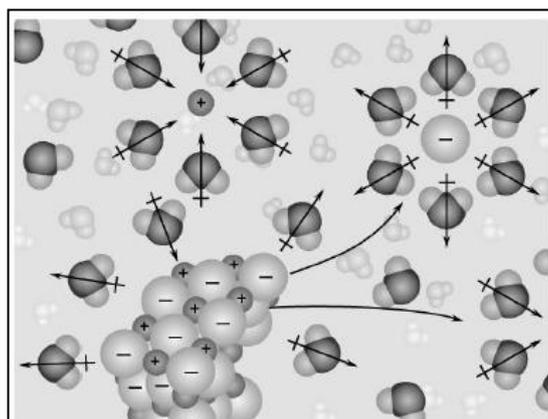
Grammi NaCl	Valore dell'impedenza (KOhms)
0.9 g	1394
1.0 g	1246
1.1 g	1146
1.2 g	1123
1.3 g	1011
1.4 g	915,801
1.5 g	851,347

Questo si riflette su un abbassamento del modulo dell'impedenza nel diagramma di Bode.



Indagando più attentamente, ogni qual volta disciogliamo un sale (come NaCl) in un liquido come l'acqua avviene un processo chiamato *dissociazione ionica* ovvero un meccanismo che porta la dissoluzione di un solido ionico in acqua. Infatti, le molecole d'acqua essendo polari hanno una estremità positiva e una negativa, ciò permette di esercitare una vera e propria attrazione elettrostatica tra un ione positivo e la parte terminale negativa della molecola d'acqua stessa e tra uno ione negativo e la parte positiva delle molecole d'acqua.

Dopo la rottura del legame avviene però un meccanismo di solvatazione, vale a dire che ogni ione di NaCl viene circondato dalla molecola di solvente opportunamente orientata nei confronti della carica dello ione. Si dice che lo ione è solvatato.



Si comprende, pertanto, che la conducibilità di una soluzione elettrolitica dipende dalle specie ioniche in essa presenti. Per qualsiasi conduttore la conducibilità o conduttanza è definita come l'inverso della propria resistenza:

$$\Lambda = 1/R \quad (2.20)$$

Il significato fisico di questa grandezza è chiaro: la conducibilità di un conduttore è una misura della sua capacità di farsi attraversare da un corrente elettrica. L'unità di misura della conducibilità è il Siemens (simbolo S); dalla definizione scritta sopra si deduce facilmente che  $1 \text{ S} = 1 \text{ W}^{-1}$

Ovviamente la resistenza di un conduttore dipende dalla sua natura (ovvero se si tratta di un metallo oppure di una soluzione come ad esempio: NaCl) che dalle sue caratteristiche geometriche, cioè in ultima analisi, dalla sua forma e dimensione.

Questa duplice dipendenza può essere espressa in forma esplicita; indicando con S la sezione e con l la lunghezza di un conduttore, allora la sua resistenza è data da:

$$\Lambda = \frac{S}{\rho l} = \chi \frac{S}{l} \quad (2.21)$$

dove abbiamo posto  $\chi = \frac{1}{\rho}$  in analogia con quanto detto per la resistenza, questa relazione mette in evidenza che la conducibilità di un conduttore dipende dalla sua natura  $\chi$  e dalla sua geometria ( $\frac{S}{l}$ ). Quindi  $\chi$  è detta **conducibilità specifica** e, come  $\rho$ , dipende *solo* dalla natura del conduttore. Le sue dimensioni si deducono dall'espressione appena scritta: se S è espressa in  $\text{cm}^2$  e l in cm, allora  $\chi$  risulta espressa in  $\text{S/cm} = 1/\text{W cm}$ .

Esaminiamo i fattori che agiscono sul meccanismo e che perciò influiscono sul calore della conducibilità specifica. Tali fattori sono: le concentrazioni ioniche, le cariche ioniche, la velocità di migrazione degli ioni, la temperatura, la pressione, la viscosità e la costante dielettrica del solvente.

*Tutti i calcoli che verranno in seguito sono frutto della mia intuizione.*

### 2.5.1.1 Le concentrazioni ioniche

Vediamo ora come sono influenzate la conducibilità specifica,  $\chi$ , e la conduttanza,  $\Lambda$  dalle diluizioni, ma per arrivare a questo conviene prima vedere da che cosa dipendono queste due quantità.

$$\chi = nazF(u_- + u_+) \quad (2.22)$$

$\chi$  = conducibilità specifica,  $\Omega^{-1}cm^{-1}$

$n$  = n° di moli per  $cm^3 mol * cm^{-3}$

$\alpha$  = grado di dissociazione

$z$  = carica degli ioni

$F$  = costante di Faraday

$(u_{-} e u_{+})$  = velocità ioniche  $cm^2(\Omega^{-1})C^{-1}$  a campo elettrico unitario = mobilità ionica

La velocità di spostamento o traslatoria (cm/sec) é proporzionale al campo elettrico ossia al rapporto tra la fem applicata , la distanza tra gli elettrodi (= gradiente di potenziale) e la costante di proporzionalità definiamo così la velocità ionica:  $v_{\pm} = u_{\pm} E$  . abbiamo perciò che:

$$u_{\pm} = v_{\pm} / E \quad [cm \text{ sec}^{-1} / \text{volt } cm^{-1}] = [cm^2 \text{ sec}^{-1} / \text{Ampere } \Omega] = [cm^2 \text{ sec}^{-1} / \text{Coulomb sec}^{-1} \Omega] = [cm^2 C^{-1} \Omega^{-1}]$$

Per uno stesso elettrolita  $z$ , e  $(u_{-} e u_{+})$ ,  $F$  sono costanti, per cui la conducibilità specifica è funzione di n° di ioni presenti per unità di volume e del grado di dissociazione, grandezze che variano in modo inverso con la diluizione:

$\alpha$  : aumenta all' aumentare della diluizione

$n$  : diminuisce al' aumentare della diluizione.

Comprendiamo perciò che la conducibilità specifica è un dato caratteristico per un determinato elettrolita ad una determinata concentrazione: infatti, è noto che diluendo un elettrolita si favorisce la sua dissociazione e quindi si viene a variare il suo numero di ioni. Se quindi un elettrolita è completamente dissociato ( $\alpha = 1$ ), la diluizione produce una diminuzione lineare di conducibilità specifica perché diventa minore il numero di ioni per  $cm^3$ . Se, invece, l'elettrolita non è ancora completamente dissociato, la sua diluizione produce una diminuzione di concentrazione generale, in quest'ultimo caso però, meno molecole per  $cm^3$ , ma più dissociate e, se la maggior dissociazione prevale sulla diluizione analitica, si ha un aumento di conducibilità: ciò avviene per elettroliti deboli; cioè elettroliti che si dissociano completamente.

Un elettrolita forte, invece, come il caso dei sali, si dissocia solo parzialmente e, in accordo con i dati sperimentali visti all'inizio in tabella, partendo da soluzioni concentrate la diluizione produce un aumento di dissociazione e quindi di  $\chi$ , all'aumentare della diluizione si ha poi una diminuzione ionica in assoluto e, quindi, diminuzione di  $\chi$ . Infine, possiamo esprimere  $\chi$  con la suddetta relazione:

$$\chi = f(n, \alpha) \quad (2.23)$$

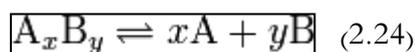
### 2.5.1.2 Equazione di una Resistenza in funzione dei grammi di NaCl disciolti

Per esprimere la relazione 2.21 in funzione dei grammi disciolti in una precisa quantità d'acqua, e poi successivamente ricavarci la R con la 2.20 occorrono alcuni semplici calcoli stechiometrici.

Per fare ciò bisogna comprendere con maggior dettaglio il significato della costante di dissociazione. La costante di dissociazione esprime la tendenza di un composto a dissociarsi, ossia a scindersi per formare altri composti costituiti da molecole aventi peso molecolare minore rispetto alle molecole del composto di partenza; il sale NaCl si dissocia nei suoi ioni che lo compongono.

La costante di dissociazione, nei testi di chimica, è solitamente indicata con  $K_d$  (noi l'abbiamo indicata con  $\alpha$ ). Nel caso specifico dei sali, la costante di dissociazione è anche detta costante di ionizzazione.

Si prenda in considerazione una generica reazione chimica, di questo tipo:



Dove una mole del composto  $A_x B_y$  si dissocia in x moli del composto A e y moli del composto B. In questo caso la costante di dissociazione  $K_d$  si definisce come:

$$K_d = \frac{[A]^x \times [B]^y}{[A_x B_y]} \quad (2.25)$$

Perveniamo nei due prossimi sottoparagrafi al suo calcolo diretto.

#### 2.5.1.2.1 Coefficiente di Van't Hoff e pressione osmotica

Il *coefficiente di Van't Hoff* è un fattore moltiplicativo con il quale è possibile ottenere il numero totale di moli di particelle, cioè di molecole e ioni presenti in una data soluzione a patto che si

conoscano natura e quantità del soluto introdotto in soluzione. Lo si indica con la lettera  $i$  e la sua espressione è

$$i = 1 + \alpha(v - 1) \quad (2.26)$$

dove:

$\alpha$  = grado di ionizzazione dell'elettrolita

$v$  = numero di ioni derivati da una singola molecola o unità formula di elettrolita.

Per il calcolo della pressione osmotica per soluzioni di elettroliti, vale la seguente relazione

$$\pi = MRTi \quad (2.27)$$

in cui:

$R$  è la costante universale dei gas perfetti (pari a 8,314 J/mol K)

$T$  è la temperatura assoluta (in K)

$M$  è la concentrazione molare del soluto (in mol/m<sup>3</sup>).

Conoscendo la pressione osmotica (per esempio del sangue) è possibile quindi ricavare il suo grado di dissociazione, introducendo la formula (2.26) nella (2.27) e ricavando tutto in funzione del grado di dissociazione.

$$\alpha = \frac{MRT - \pi}{MRT(1 - v)} \quad (2.28)$$

Come si può notare la costante di dissociazione oltre ad essere influenzata dalla pressione (osmotica) è fortemente influenzata dalla temperatura che quindi deve essere mantenuta costante. *Si può quindi concludere che il grado di dissociazione è funzione della temperatura e della pressione.*

#### 2.5.1.2.2 Concentrazione molare

Ora sia  $n^\circ$  (corrispondente alla relazione 2.22) che  $M$ , esprimono la stessa quantità ovvero la molarità cioè un unità di misura della concentrazione molare di soluzioni definita come le moli di soluto presenti in un litro di soluzione, ovvero:

$$M = \frac{\text{moli soluto}}{\text{litri di soluzione}} \quad (2.29)$$

Sapendo ora che le moli di soluto corrispondono al rapporto tra i grammi del soluto disciolto, in altre parole alla sua massa, e il peso molecolare, possiamo quindi esprimere le moli soluto, che compaiono nella (2.29), al numeratore come:

$$\frac{\text{massa (NaCl)}}{\text{peso molecolare (NaCl)}} \quad (2.30)$$

Sostituendo la relazione (2.28) nella (2.22) e in seguito sostituendo la formula (2.22) nella (2.21) e ponendo queste ultime uguali alla (2.20) otteniamo ciò che segue.

#### 2.5.1.2.3 Proprietà elettriche di una soluzione elettrolitica

$$R = \frac{(u_- + u_+)nS\pi Z + 1MT(1 - \nu)}{MnSTZ(u_- + u_+)} \quad (2.31)$$

Ricordiamo che:

R = E' la resistenza del nostro modello circuitale

n = n° di moli per  $\text{cm}^3$  [ $\text{mol} * \text{cm}^{-3}$ ]

S = E' la superficie degli elettrodi (scopriremo poi che il rapporto  $S/l = k$ , costante di cella dell'elettrodo)

$\Pi$  = E' la pressione osmotica (Ad esempio quella del sangue è 6,6 atmosfere = 5016 mmHg uguale a quella di una soluzione contenente lo 0,95% di NaCl.)

Z = E' la carica degli ioni che nel caso del cloruro di sodio è uguale a 2

l = E' la distanza dagli elettrodi

M = E' la Molarità vista come: (mole soluto)/(litri di soluzione)

$T = E'$  la temperatura assoluta (in K)

$(u_+ + u_-) = E'$  la mobilità ionica

$F = E'$  la costante di Faraday

Di fatto però questa relazione è molto limitante in quanto tiene di conto solo della presenza delle specie ionica da utilizzare. Però ha fornito delle importanti osservazioni in particolare la dipendenza della resistenza dalla temperatura e dalla pressione osmotica, quantità che sono fortemente variabili in sede di sperimentazione (causa di un ambiente non termodinamicamente isolato a pressione non isobara).

La moderna teoria elementare degli elettroliti, però, ci consente di ricavare la conduttività con la seguente espressione più generica:

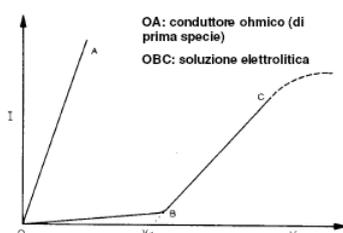
$$\sigma = \sum_i \mu_i z_i c_i F \quad (2.31)$$

Dove  $\mu_i, C_i$  e  $z_i$  sono rispettivamente la mobilità elettrica, la concentrazione e le cariche di ogni specie ionica  $i$  presente nell'elettrolita ed  $F$  è la solita costante di Faraday. Se inseriamo la 2.31 nella sottostante 2.32 otteniamo  $R$ .

$$R = \rho \frac{l}{S} = \frac{l}{\sigma S} \quad (2.32)$$

Se osserviamo la figura sottostante si osserva che nelle soluzioni elettrolitiche per avere un apprezzabile passaggio di corrente deve essere superato un valore ddp ( $V_d$ ) detto potenziale di decomposizione che è caratteristico per ogni elettrolita.

Il tratto BC è lineare, tuttavia oltre il punto C, la corrente tende a raggiungere un valore costante poiché corrisponde al massimo valore di migrazione degli ioni agli elettrodi (valore che dipende alla concentrazione, dalla temperatura e dalla viscosità della soluzione).





## Capitolo 3

# Analisi Sperimentale

Questo capitolo tratterà di tutto il lavoro sperimentale effettuato. Esso si divide in una parte ove verrà descritta la strumentazione utilizzata, mentre un'altra parlerà delle procedure sperimentali.

### 3.1 Strumentazione

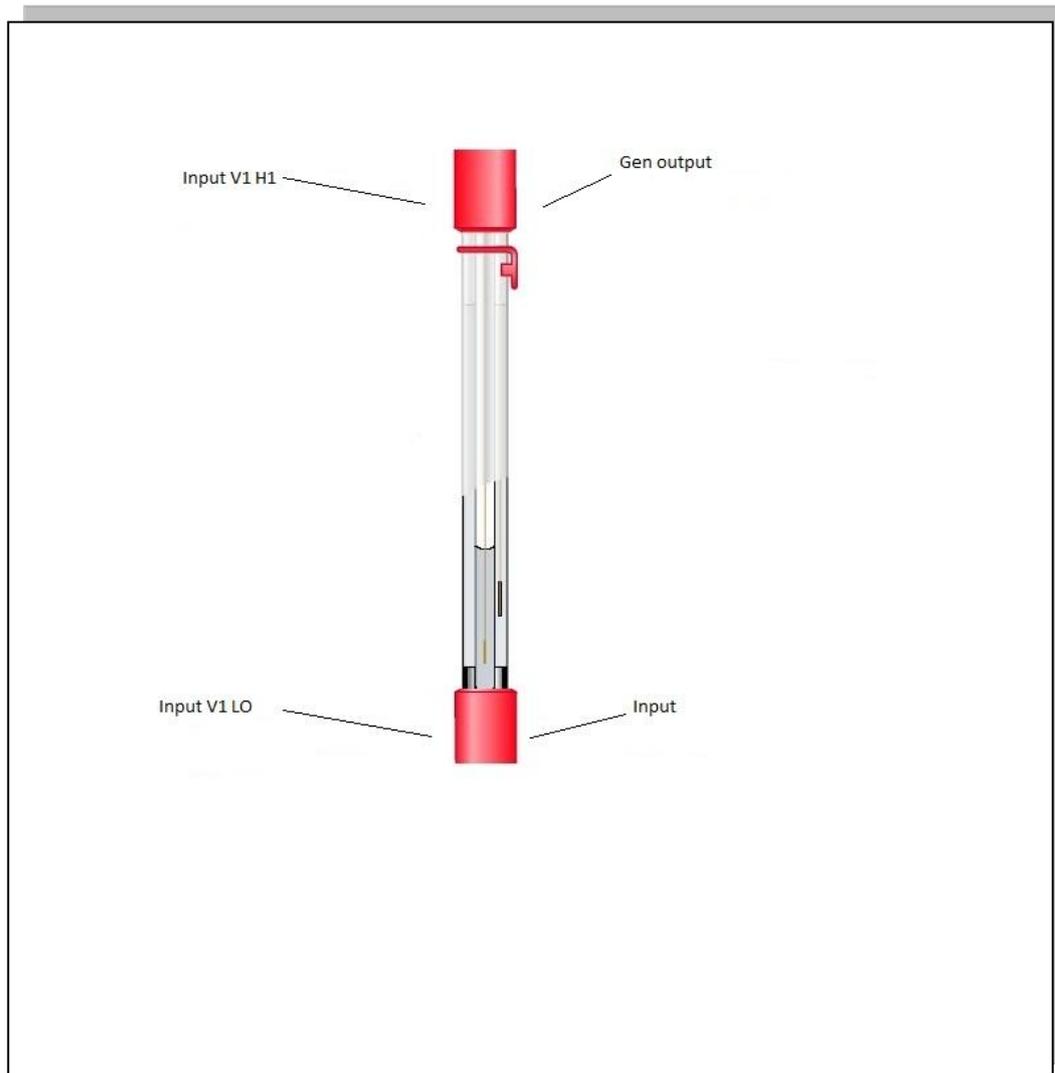
#### 3.1.1 Strumentazione di misura

Come già ampiamente trattato nel primo capitolo ogni misurazione, durante la fase sperimentale, è stata effettuata per mezzo di un impedenzometro chiamato anche analizzatore di impedenza/guadagno- fase della Solatron Schlumberger mod.1260



Il Solatron è poi collegato ad una provetta di vetro con due giunture metalliche all'estremità di essa (rappresentate in rosso in figura), all'interno della quale è messa la sostanza da analizzare.

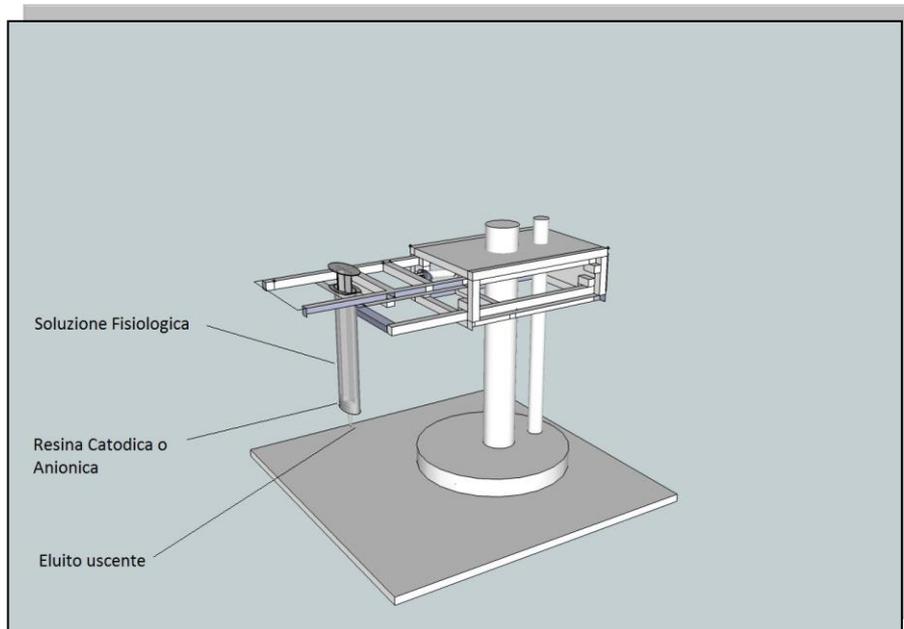
L'analizzatore Solatron è poi collegato al polo positivo della sonda per mezzo dei morsetti "Gen output" e "Input V1 H1", all'anodo con i morsetti "Input" e "Input VI LO" mentre, infine, i morsetti di massa sono collegati ad un oggetto metallico.



### 3.1.2 Strumenti per passaggio o mescolamento della soluzione fisiologica attraverso resina

La strumentazione per permettere il contatto delle soluzioni o eluiti con le resine è composta principalmente da due dispositivi:

- a) Inizialmente, è stata usata una torre di eluizione composta da una semplice siringa, opportunamente adattata, in cui veniva inserita per prima la resina catodica . Successivamente, si versava la soluzione fisiologica pura (chiamato anche bianco) che, per pressione usciva dal foro della siringa stessa, ottenendo in questo modo l'eluito. Quest'ultimo, altro non è che una soluzione fisiologica in cui gli ioni di sodio, inizialmente presenti, sono stati sostituiti da ioni idrogeno. In seguito l'eluito veniva fatto passare per la stessa torre di eluizione ma al posto di una resina catodica si utilizzava una anionica al fine di normalizzare gli ioni idrogeni con gruppi ossidrilici  $\text{OH}^-$ .



- b) Nelle successive sperimentazioni si è preferito utilizzare un sistema di mescolamento grazie all'utilizzo di un agitatore magnetico. La velocità è stata tenuta costante, mentre il tempo di sottoposizione al mescolamento è stato motivo d'indagini. Inizialmente, infatti, si pensava che l'effetto della resina sulla soluzione fisiologica fosse determinato da quando tempo le due fossero lasciate a contatto, poi però si è scoperto che tale variabile temporale è del tutto ininfluyente.



## 3.2 Materiali

### 3.2.1 Resine a scambio ionico

Materiale essenziale per condurre tutte le esperienze di ricerca sono state le resine a scambio ionico. Esse sono composte da una matrice polimerica, in genere granuli di pochi millimetri di diametro, in cui sono inglobati ioni, disponibili per lo scambio ionico. In generale, tali resine sostituiscono un particolare ione con un altro tipo, durante il passaggio di una qualunque soluzione fisiologica attraverso a ciascuna resina, questa trattiene lo ione da catturare sostituendolo con un altro.

Esistono molti tipi di resine a scambio ionico ma le principali sono di due tipi:

- Catodiche: in grado di scambiare cationi
- Anioniche: in grado di scambiare anioni

#### 3.2.1.1 Resine a eliminazione $\text{Na}^+$



La resina catodica utilizzata è la DOWX G-26,H from (SIGMA-ALDRIC) . Il passaggio o il mescolamento di una soluzione fisiologica attraverso questa resina fa aumentare la conducibilità in quanto dopo aver catturato cationi  $\text{Na}^+$  vengono rilasciati cationi  $\text{H}^+$ , con un conseguente abbassamento de pH.

#### 3.2.1.2 Resina a rilascio $\text{OH}^-$



La resina anionica utilizzata è la MTO-Dowex M43 Anion Exchange Resin (SUPELCO Analytical) .

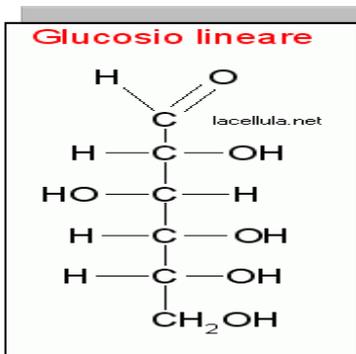
Il passaggio/mescolamento di un eluito, residuo di soluzione fisiologica mescolata con la resina DOWX G-26, attraverso questa resina, permette di trattenere cationi  $\text{H}^+$  scambiando ioni  $\text{OH}^-$ . Abbiamo così ottenuto un processo di normalizzazione di carica per mezzo di un suo annullamento alzando inoltre il suo pH.

### 3.2.2 Soluzione fisiologica



La soluzione fisiologica (Baxter) utilizzata è una soluzione di cloruro di sodio in acqua purificata, usata comunemente per le infusioni o per sciacquare lenti a contatto. In concentrazione normale, essa è una soluzione contenente il 0.9 % P/V di NaCl ovvero circa 9 g/L. Viene anche comunemente chiamata soluzione isotonica al sangue, anche se è tecnicamente erroneo chiamarla così in quanto il suo livello di osmolarità è leggermente più elevato rispetto al sangue, a circa 300 mOsm/L.

### 3.2.3. Glucosio



Il glucosio principale attore di tutta questa ricerca è uno zucchero a sei atomi di carbonio e rientra pertanto nella categoria degli esosi. Inoltre, è un monosaccaride, cioè uno zucchero che non può essere idrolizzato in un carboidrato più semplice. Il glucosio utilizzato in queste sperimentazioni è il D-(+)-Glucose anhydrous (Fluka, BioChemika).

## 3.3 Metodologia Sperimentale

### 3.3.1 Scopi

Il primo passo sperimentale è stato quello di analizzare il comportamento delle due resine al fine di capire se fossero in grado di diminuire la quantità di NaCl, importante elemento di disturbo per una misura di glicemia tramite impedenza nei liquidi fisiologici. In tutte queste fasi si sta quindi compiendo una pura ricerca di base avendo in mente una possibile applicazione clinica futura relativa alla misurazione di glicemia. L'uso di tali resine, tuttavia, determina un decisivo allontanamento da una completa applicazione di tipo non invasivo: infatti, non è possibile pensare di iniettare una resina nel corpo umano, anche ammesso essa svolga il compito desiderato. Si cerca quindi, per lo meno, di migliorare l'attuale tecnica basata sulla glucosio ossidasi, usata nei comuni glucometri per uso domiciliare. Tant'è che i tradizionali glucometri sono poco precisi e affidabili con un costo non indifferente per l'acquisto dello "stick" necessario per effettuare la misurazione.

### 3.3.2 Procedura degli esperimenti

Tutte le misure sono state eseguite nel range di frequenze di 10MHz – 1KHz, con 5 punti per decade, in scala logaritmica.

Si sono utilizzate due metodologie per il mescolamento della resina con la soluzione fisiologica: dapprima con la colonna di eluizione, poi per mezzo di un agitatore che ha premesso di tenere in considerazione l'effetto della variabile temporale.

#### 3.3.2.1 Mescolamento soluzione-resina con colonna di eluizione

Si è misurata l'impedenza di una soluzione fisiologica pura, detto bianco (ovvero non caricata e senza nessun passaggio per le resine) prendendo essa come riferimento per il confronto.

Sono stati poi preparati 20 ml di soluzione fisiologica allo 0,9% di NaCl facendola passare per mezzo della colonna di eluizione attraverso un grammo di resina a eliminazione di  $\text{Na}^+$ , ottenendo così l'eluuto 1. Quest'ultimo è poi ulteriormente passato attraverso un grammo di resina a rilascio di  $\text{OH}^-$ , ottenendo così, infine, l'eluuto 2 il quale è stato sottoposto a misurazione, osservando un abbassamento d'impedenza in quanto l'eluuto 2 è più conduttivo della soluzione fisiologica pura.

In seguito, si è presa una soluzione di 0.9% di NaCl aggiungendoci 12g/l di NaCl ovvero 0,3 g/l, ottenendo una soluzione fisiologica caricata di sodio, dopo averne calcolato lo spettro d'impedenza. Abbiamo ripetuto il procedimento di passaggio tra le due resine (utilizzando sempre un grammo di resina) ottenendo l'eluuto 2 caricato, sottoposto anch'esso a misurazione. Il grafico d'impedenza

determinava un ulteriore abbassamento proprio per la maggior conduttività dovuta alla maggior quantità di sodio presente nella soluzione di partenza.

Il risultato del salto tra lo spettro d'impedenza dell'eluito 2 non caricato con lo spettro della soluzione fisiologica pura e quello dell' eluito 2 caricato (in cui abbiamo aggiunto 12g/l di NaCl) con il suo relativo spettro della soluzione fisiologica caricata ha avuto esito negativo poiché, pur notando un visibile abbassamento del modulo d'impedenza tra le rispettivi moduli, il confronto dei due salti non è abbastanza significativo. In prima analisi si osserva quindi un'incapacità della resina ad eliminazione di  $\text{Na}^+$  ad eliminare sodio a fronte di un grammo di resina.

L'esito negativo del primo esperimento ha portato a una nuova esecuzione di esso portando però la quantità della resina da un grammo a due grammi il risultato non ha avuto particolari cambiamenti rispetto al primo esperimento.

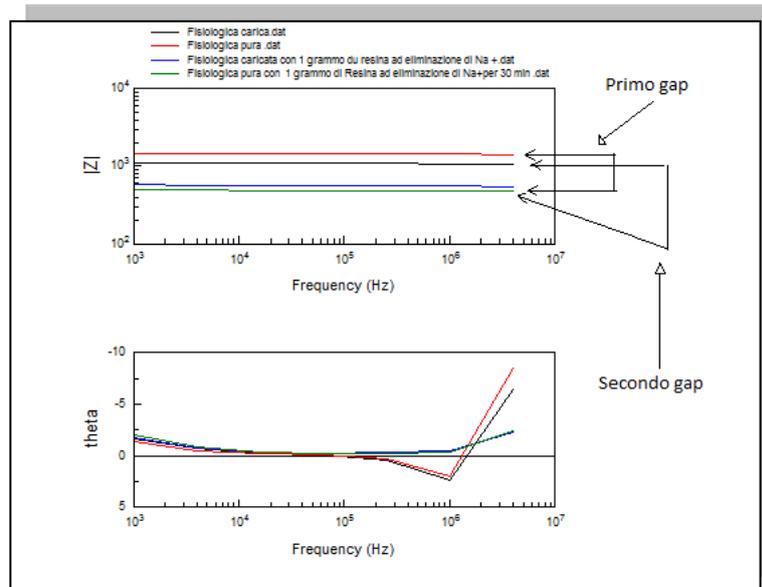
### 3.3.2.2 Mescolamento resina–soluzione con Agitatore Magnetico

Si sono presi due grammi di resina a eliminazione di  $\text{Na}^+$  e 20 ml di soluzione fisiologica inseriti all'interno di un Baker posto poi in un mescolatore per 30 minuti a velocità costante, ne abbiamo così estratto l'eluito e dopo averlo misurato si è calcolato la distanza in modulo (il gap d' impedenza) assieme allo spettro della soluzione fisiologica pura. Infine, è stato confrontato questo gap con quello ottenuto dal confronto dello spettro di un eluito estratto dal mescolamento con medesimo tempo e stesso tipo di resina ma soluzione fisiologica caricata (in cui sono stati aggiunti 12 g/l di NaCl). Accortici di un banale errore di lettura dei grafici si è appurato che il gap d'impedenza diminuiva; difatti, ripetendo lo stesso esperimento aumentando però i grammi di resina da due a quattro osserviamo che :

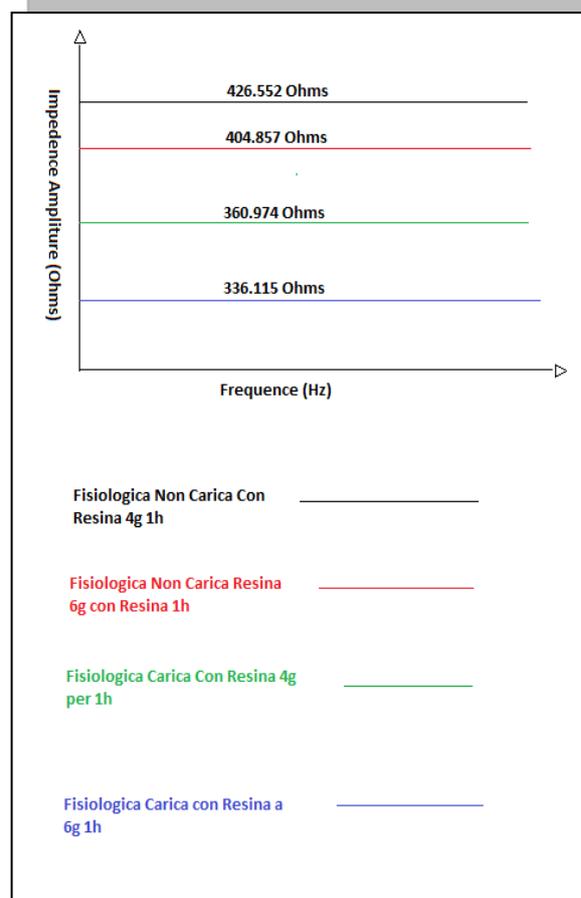
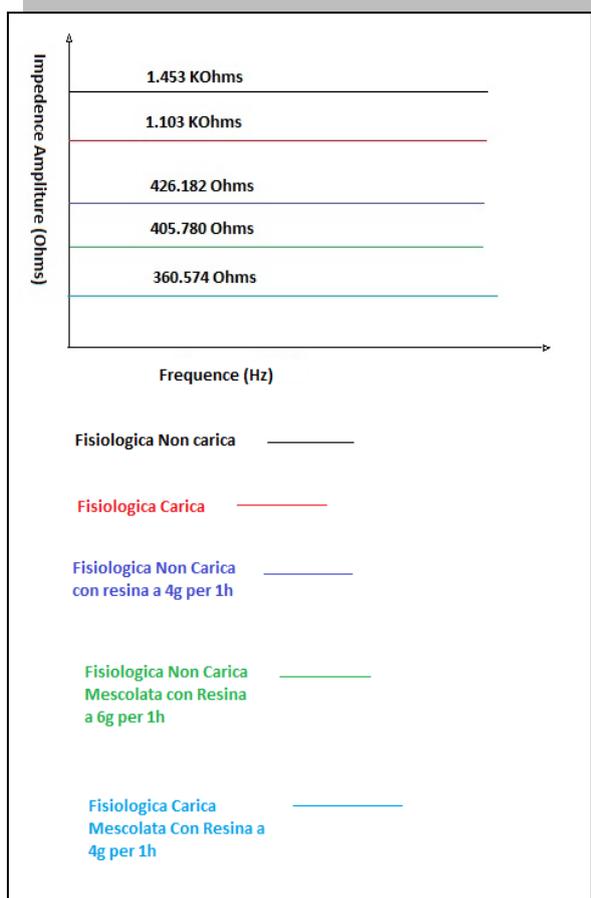
- A. Soluzione fisiologica pura è a 1,448 KOhms
- B. Soluzione fisiologica pura mescolata per 30 minuti con resina a eliminazione di  $\text{Na}^+$  è di 1,098 KOhms
- C. Soluzione fisiologica caricata è a 418,1190 Ohms
- D. Soluzione fisiologica caricata mescolata per 30 minuti con resina a eliminazione di  $\text{Na}^+$  è a 319,380 Ohms.

Quindi il corrispettivo gap tra A. e B. è di 350 Ohms , mentre quello tra C. e D. è di 98 Ohms: c è una sostanziale diminuzione !

L'esperimento è stato poi ripetuto aumentando il quantitativo di resina da due grammi a quattro nel tentativo di capire se a fronte di un aumento di resina il gap d'impedenza avesse un diminuzione. Inoltre, successivamente, è stato aumentato il tempo di mescolamento da 30 minuti a un'ora, sempre al fine di capire se la cinematica influisse nella diminuzione del gap di impedenza. Non abbiamo rilevato nessun miglioramento a riguardo.



Nei successivi esperimenti abbiamo misurato 6,04 g di resina a eliminazione di  $\text{Na}^+$  (DOWEX G-26  $\text{H}^+$ ). Progressivamente quindi, in un Becker con portata da 50 ml, abbiamo inserito complessivamente 20 ml di soluzione fisiologica non caricata: prelevando la soluzione dalla “sacchetta” in cui è contenuta con una siringa di capacità 5 ml facendo 4 operazioni di prelievo (4 volte per 5 ml, complessivamente 20 ml). Si è poi trasferita la resina di  $\text{Na}^+$  (con peso pari 6,04 g) nel Becker contenente la soluzione fisiologica non caricata (20 ml) avendo cura di trasferire tutte le piccole quantità che elettrostaticamente rimanevano adese al contenitore della massa di resina. Inoltre, abbiamo inserito un magnetino (prima dell’inserimento della resina) nel Baker. E’ stato posizionato il Becker nell’agitatore magnetico azionandolo. Dopo aver atteso un’ora esatta, si è eseguito le opportune misurazioni senza tuttavia ottenere risultati poiché il gap d’impedenza non è migliorato. Questo ha definitivamente confermato che né l’aumento di resina né aumentando il tempo di sottoposizione all’agitatore magnetico porta a miglioramenti rilevanti. I grafici seguenti danno l’idea di quanto detto in precedenza.



### 3.3.2.3 Prove in presenza del Glucosio

Dopo aver ottenuto scarsi risultati con i test fatti in precedenza si è provato ad analizzare il comportamento delle resine in presenza del glucosio.

Al fine di ciò si sono costruite due soluzioni glucosate nel seguente modo:

- Prima soluzione da 300 mg/dl con un volume di 50 ml a partire dalla soluzione fisiologica a 0,9% di NaCl
- Seconda soluzione da 100 mg/dl ottenuta sempre a partire da soluzione fisiologica di NaCl al 0,9 %

Abbiamo poi verificato le concentrazioni delle soluzioni a e b attraverso un tradizionale glucometro. Alla soluzione a) abbiamo aggiunto 4,03 g di resina ad eliminazione di  $\text{Na}^+$  e il magnetino, mescolando poi il tutto per 30 minuti con l'agitatore magnetico.

Ottenuto l'eluito a) si è proceduto alla sua misurazione del glucosio che risultava a 128 mg/dl. Poiché il volume dell'eluito non era molto, ne abbiamo preso uno di volume di 25 ml e aggiunto poi 2g di resina a rilascio di  $\text{OH}^-$  mescolando ancora per 30 minuti con agitatore magnetico. Ottenuto, infine, l'eluito a) con le due resine, è stata eseguita la misurazione del glucosio con il glucometro.

Tutto questo procedimento è stato ripetuto per la soluzione b) ottenendo un eluito b).

Abbiamo rimisurato tutti gli eluiti con il glucometro, accorgendoci però che il valore di esso mostrava errori percentuali grossolani.

In un primo momento si è ipotizzato che la resina potesse “mangiare” il glucosio, anche se, scientificamente parlando, era del tutto impensabile in quanto ambi e due le resine agiscono solo su ioni e non su molecole inerti come il glucosio.

Riportiamo qui le misure effettuate successivamente:

- a) L'eluato finale con glucosio a partire da soluzione fisiologica pura ( Soluzione a ) è a 551,135 Ohms
- b) Il bianco della fisiologica si trova invece a 1090 KOhms
- c) Lo spettro per l eluito ottenuto a partire da una soluzione fisiologica ( Soluzione b ) caricata si trova 1458 KOhms.

Abbiamo quindi supposto che il glucometro usato (di tipo domiciliare) non era sufficientemente idoneo per misurazioni da laboratorio.

Non avendone uno di tipo professionale a disposizione si è proceduto con i seguenti tentativi:

E' stato preso 20 ml di soluzione fisiologica arricchita di glucosio con concentrazione di 300 mg/dl. Si è controllata la concentrazione di glucosio con il glucometro, che era di 332 mg/dl, è stato poi aggiunta 1,4 grammi di resina ad eliminazione di  $\text{Na}^+$  e, introdotto il magnetino, si è mescolato per 30 minuti al mescolare magnetico. Infine, dopo aver ottenuto l'eluato, si è effettuata la misurazione ottenendo un azzeramento della quantità di glucosio.

E' stato quindi riutilizzato l'eluato dell'esperienza precedente con volume pari a 20 ml e a esso abbiamo aggiunto 60 mg di glucosio. Successivamente, si è misurata la concentrazione di glucosio (con glucometro): il risultato non è cambiato, il glucometro si azzerava.

Si sono presi poi 20 ml di soluzione fisiologica; abbiamo incrementato la dose di glucosio aggiungendone 300 mg. La sua concentrazione risultante al glucometro, era di 60 mg/dl. Questo sembrerebbe perciò confermare l'idea che il glucometro di tipo domiciliare non è adatto per misurazioni di laboratorio.

Si è quindi preso 20 ml di soluzione fisiologica arricchita di glucosio con concentrazione 150 mg/dl (al glucometro segnava circa 200 mg/dl) e abbiamo aggiunto 0,4 g NaCl.

La misurazione successiva con il glucometro risultava essere di circa 200 m/dl, ciò conferma il valore e l'ipotesi della mancata precisione del glucometro.

### 3.3.2.4 Legame tra il gap d'impedenza e la concertazione percentuale di NaCl

Dopo aver ottenuto scarsi risultati con gli esperimenti fatti in precedenza si è pensato di ricavare il valore di una quantità di sodio incognito, presente in una soluzione filologica, sfruttando queste resine.

Infatti, si è osservato che se misuriamo una soluzione di NaCl incognito e successivamente la stessa soluzione viene passata attraverso la resina ad eliminazione di  $\text{Na}^+$  il salto d'impedenza rimane del tutto costante.

Questo ci ha portato alla costruzione di una curva di taratura la quale permette un legame tra il salto d'impedenza, ottenuto dallo spettro di una soluzione fisiologica a concentrazione di sodio variabile e lo stesso spettro calcolato dopo aver fatto passare quest'ultima soluzione in resina.

Per fare ciò abbiamo costruito sette soluzioni fisiologiche da 100 ml ciascuna caricate nel seguente modo:

- 1) 0,9% fisiologica normale, non carica
- 2) 1,0 % caricata di 0,1 g di NaCl dalla soluzione fisiologica di partenza
- 3) 1,1% caricata di 0,2 g di NaCl dalla soluzione fisiologica di partenza
- 4) 1,2% caricata di 0,3g di NaCl dalla soluzione fisiologica di partenza
- 5) 1,3% caricata di 0,4% NaCl dalla soluzione fisiologica di partenza
- 6) 1,4% caricata di 0,5g di NaCl dalla soluzione fisiologica di partenza
- 7) 1,5% caricata di 0,6g NaCl dalla soluzione fisiologica di partenza

Si sono quindi presi 20 ml di soluzione 1) e aggiunto poi 4,0g di resina ad eliminazione di  $\text{Na}^+$ ; si è fatto miscelare per 30 minuti in un miscelatore magnetico, al termine si è prelevato subito l'eluato e risposto in una bottiglietta di plastica richiudibile.

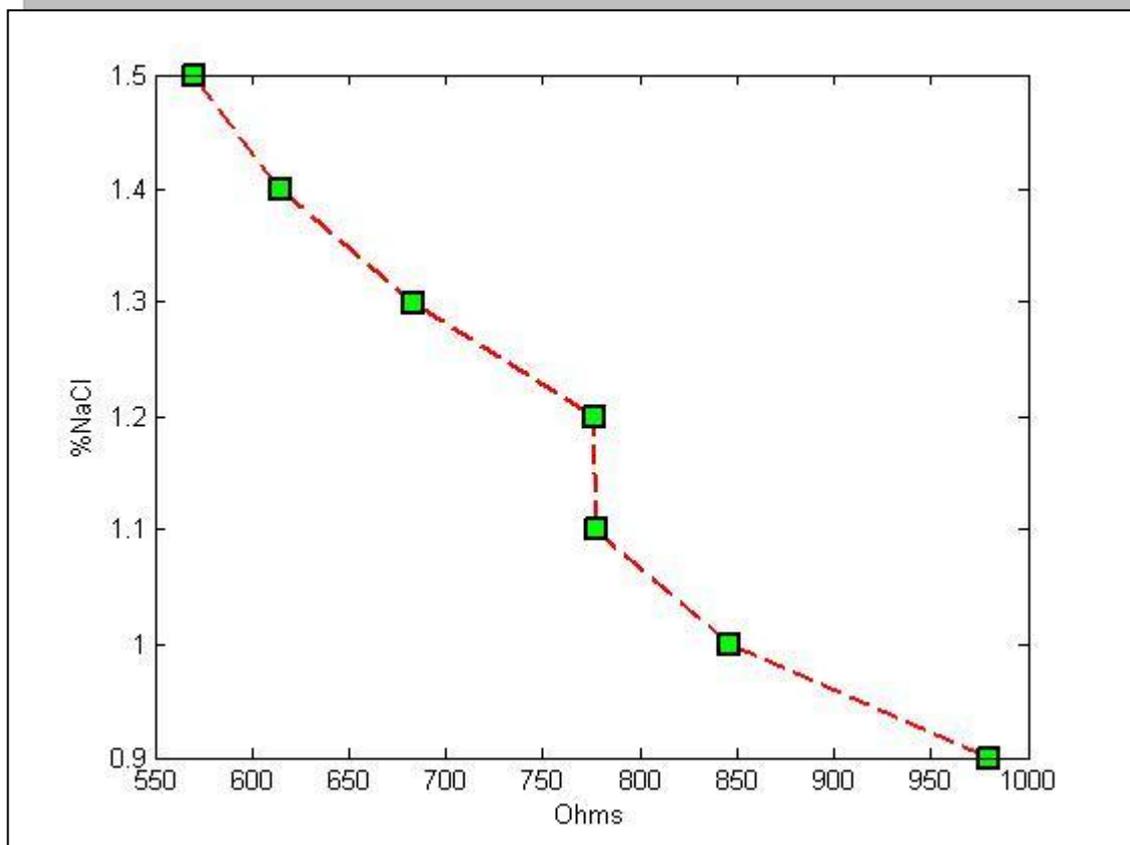
Le stesse operazioni si sono svolte per ciascuna delle 6) rimanenti soluzioni preparate. Infine, sono state misurate le impedenze sia delle soluzioni pre resina che quelle post resina e successivamente calcolato il gap d'impedenza.

<b>Fisiologica a concentrazione nota senza passaggio in resina (% NaCl)</b>	<b>Impedenza Calcolata</b>	<b>Fisiologica a concertazione nota con passaggio in resina (%NaCl)</b>	<b>Impedenza Calcolata</b>
0.9	1.394 Ohms	0.9	414.002 Ohms
1.0	1.246 Ohms	1.0	399.606 Ohms
1.1	1.146 Ohms	1.1	368.771 Ohms
1.2	1.123 Ohms	1.2	346.577 Ohms
1.3	1.011 Ohms	1.3	327.822 Ohms
1.4	915.801 Ohms	1.4	301.341 Ohms
1.5	851.347 Ohms	1.5	281.547 Ohms

Da questa tabella si ottengono i gap d'impedenza come mostrato da quest'ultima tabella.

<b>Impedenza della Soluzione non passata in resina</b>	<b>Impedenza della Soluzione passata in resina</b>	<b>Delta calcolato</b>
1.394 Ohms	414.002 Ohms	979.998 Ohms
1.246 Ohms	399.606 Ohms	846.394 Ohms
1.146 Ohms	368.771 Ohms	777.229 Ohms
1.123 Ohms	346.577 Ohms	776.423 Ohms
1.011 Ohms	327.822 Ohms	683.178 Ohms
915.801 Ohms	301.341 Ohms	614.460 Ohms
851.347 Ohms	281.547 Ohms	569.800 Ohms

Mettendo il tutto in un grafico otteniamo la seguente curva:



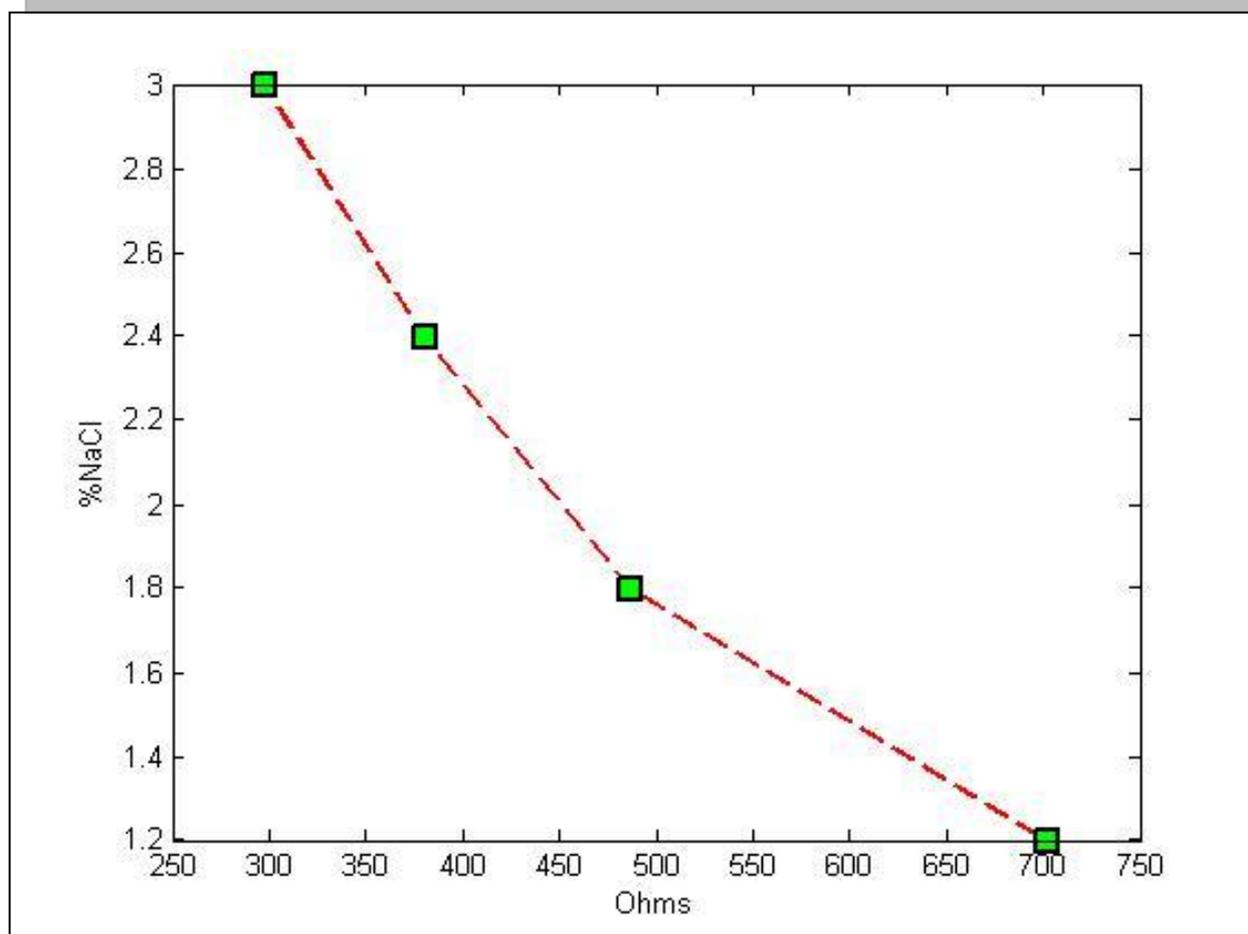
Abbiamo ripetuto l'esperienza con percentuali diverse di NaCl costruendo quattro tipi di soluzione

- 1) 1,2% caricata di 0,3g NaCl dalla soluzione fisiologica di partenza
- 2) 1,8 caricata a 0,9g NaCl dalla soluzione fisiologica di partenza
- 3) 2,4 caricata 1,5g di NaCl dalla soluzione fisiologica di partenza
- 4) 3,0 caricata 2,1g di NaCl della soluzione fisiologica di partenza

Si sono poi presi 20 ml della soluzione 1) e aggiunto successivamente 4,0g di resina a eliminazione di  $\text{Na}^+$  (Dowex G-26), come nell' precedente esperimento abbiamo lasciato a miscelare per 30 minuti all' agitare magnetico e infine abbiamo prelevato l'eluito riponendolo in bottiglietta chiusa. Per ciascuna delle quattro soluzioni si è ripetuto le stesse operazioni ottenendo quattro eluiti. Alla fine abbiamo misurato l'impedenza di ciascuna soluzione e dei corrispondenti eluiti (8 misurazioni in tutto).

%NaCl	Impedenza della Soluzione non passata in resina	Impedenza della Soluzione passata in resina	Delta calcolato
1.2	1.032 Ohms	329.923 Ohms	702.077 Ohms
1.8	736.620 Ohms	249.509 Ohms	487.11 Ohms
2.4	584.637 Ohms	204.356 Ohms	380.281 Ohms
3.0	476.684 Ohms	178.915 Ohms	297.769 Ohms

Mettendo di nuovo tutto in un grafico otteniamo la seguente curva:



### 3.3.2.4.1 Prove con il Ringer Lattato

Abbiamo provato a sostituire la soluzione fisiologica normale con il Ringer Lattato il quale per la sua più complessa composizione (oltre il sodio è presente cloruro, calcio, potassio) si avvicina maggiormente alla struttura del sangue.

Simile agli esperimenti precedenti costruiamo cinque soluzioni di NaCl a concentrazione variabile di

1,2% pari a 0,6 g di NaCl

1,5% pari a 0,9g di NaCl

1,8% pari a 1,2g di NaCl

2,1% pari a 1,5g di NaCl

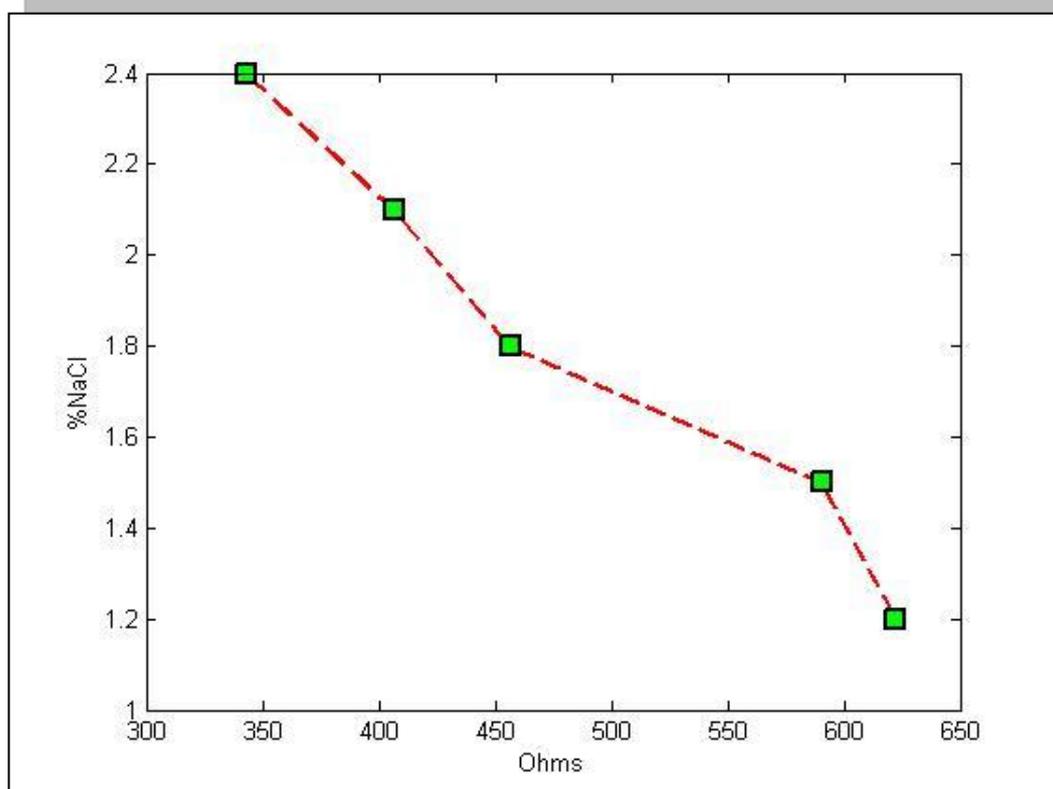
2,4% pari a 1,8g di NaCl

Per ciascuna soluzione prendiamo 20 ml di volume e aggiungiamo 4,0 g di resina Dowex G-26 e dopo aver mescolato assieme per 30 minuti, abbiamo ricavato l'eluato di ciascuna soluzione.

Infine, è stata misurata l'impedenza di ciascuna soluzione fisiologica e dell'eluato. I valori misurati sono riassunti nella tabella qui sotto:

<b>%NaCl</b>	<b>Impedenza della Soluzione non passata in resina</b>	<b>Impedenza della Soluzione passata in resina</b>	<b>Delta calcolato</b>
1,2 %	975.820 Ohms	353.516 Ohms	622.304 Ohms
1,5 %	860.693 Ohms	270.129 Ohms	590.564 Ohms
1,8 %	706.607 Ohms	251.866 Ohms	454.741 Ohms
2,1 %	631.628 Ohms	227.047 Ohms	404.581 Ohms
2,4 %	544.260 Ohms	201.212 Ohms	343.048 Ohms

Il grafico uscente dal legame tra il sodio e il gap d'impedenza è il seguente:



#### 3.3.2.4.2 Prove in presenza del glucosio

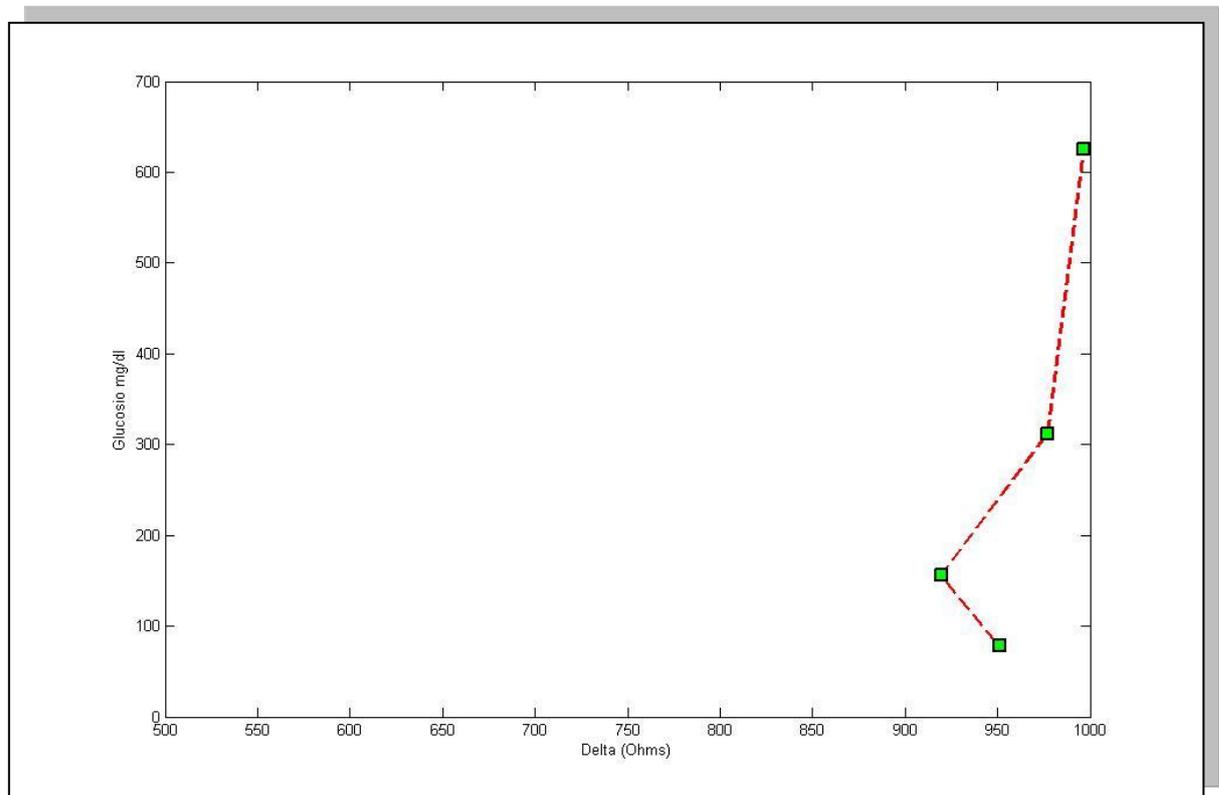
Al fine di capire il comportamento della curva di taratura in presenza di glucosio si sono create quattro soluzioni nel seguente modo: abbiamo misurato 6,25 g di glucosio e li abbiamo messi in 1 litro di soluzione fisiologica che, così, risulta a 625 mg/dl, è stato poi prelevato 0,5 l dalla soluzione 1 e vi si è aggiunto 0,5l di soluzione fisiologica che è la soluzione 2 di 312,5 mg/dl.

Successivamente si è prelevato 0,5l dalla soluzione 2 e vi abbiamo aggiunto 0,5l di soluzione fisiologica formando la soluzione 3 ( 155,25 mg/dl) .Si è poi prelevato 0,5l dalla soluzione 3 e vi si è aggiunto 0,5 l di soluzione fisiologica ottenendo infine la soluzione 4 di 78 mg/dl. Tutte queste soluzioni sono state sottoposte a misurazione

Poi, da ciascuna delle 4 soluzioni, sono stati prelevati 20ml e aggiunti così 4,0d di resina Dowex G-26. Dopo aver miscelato per 30 minuti si sono prelevati gli eluiti e sottoposti infine a misurazione.

% Glucosio (mg/dl)	Impedenza della Soluzione non passata in resina	Impedenza della Soluzione passata in resina	Delta calcolato
625	1.427 Ohms	430.243 Ohms	996.757 Ohms
312	1.400 Ohms	422.814 Ohms	977.186 Ohms
156	1.348 Ohms	428.397 Ohms	919.603 Ohms
78	1375 Ohms	423.924 Ohms	951.076 Ohms

Da quest'ultima tabella si ottiene il seguente grafico il quale conferma la non dipendenza del glucosio al passaggio in resina, i valori come vediamo vengono un po' sballati a causa di errori sistematici di misura che perturbano leggermente questi ultimi.





## Conclusioni

Da più di tre decenni i glucometri svolgono un attivo ruolo nella prevenzione della patologia diabetica e il controllo glicemico giornaliero rappresenta sicuramente il mezzo più ideale per adeguare il trattamento insulinico del paziente malato.

Allo stato attuale non si è ancora raggiunto il device ideale per il controllo glicemico, il quale dovrebbe fornire informazioni riguardanti la direzione, l'importanza, la durata, la frequenza e le potenziali cause di fluttuazione dei livelli ematici di glucosio, avvisando prontamente il paziente diabetico di quelle fluttuazioni potenzialmente pericolose.

Inoltre, tale dispositivo, dovrebbe essere minimamente invasivo, caratteristica peculiare per il miglioramento delle condizioni di vita di tutti i pazienti affetti da tale patologia costretti, quindi, a continue e ripetute misurazioni durante l'arco della giornata.

Il metodo della misura dell'impedenza sembrerebbe rappresentare idealmente un approccio promettente per sviluppare una metodica di analisi della glicemia in modo non invasivo, valida come possibile alternativa ai metodi basati sulla reazione enzimatica della glucosio – ossidasi. Rimane comunque il problema dei confondenti, quali ad esempio il sodio, che pare rappresentare un importante elemento di disturbo per una misura di glicemia tramite impedenza nei liquidi fisiologici. In questo studio abbiamo appunto analizzato il comportamento del glucosio, e di un confondente quale il sodio, nei termini di variazione dell'impedenza di soluzioni a diverse concentrazioni sia di glucosio che di sodio.

Abbiamo anche studiato il comportamento di resine a scambio ionico, che potrebbero essere una valida strategia per eliminare gli effetti confondenti del sodio. Va osservato che l'uso di tali resine determina un allontanamento dalla possibile applicazione di tipo non invasivo (non è possibile pensare di iniettare una resina – ammesso che svolga il compito desiderato – per poter poi misurare la glicemia in modo non invasivo). Tuttavia, si possono fare due considerazioni:

- 1) Si sta facendo pura ricerca di base; avendo quindi in mente una possibile applicazione clinica futura, ma per il momento anche prescindendo da questa.
- 2) In ogni caso, anche l'uso di resine potrebbe rivelarsi utile per un'applicazione clinica relativa alla misura della glicemia: non certo per lo sviluppo di un metodo non invasivo (escluso per l'ovvia ragione spiegata sopra), ma per lo meno al fine di migliorare l'attuale tecnica di rilevamento basata sulla glucosio ossidasi, utilizzata nei glucometri per uso domiciliare tradizionali: questi ultimi risultano in generale poco precisi ed affidabili (ed oltretutto ogni singola misura, effettuata con lo "stick", risulta abbastanza costosa): per questo potrebbero essere comunque di interesse tecniche di misura alternative, che migliorino la situazione dal punto di vista della accuratezza, o dei costi o di entrambi gli aspetti. Una possibile tecnica alternativa potrebbe essere appunto la misura d'impedenza della goccia di sangue del

paziente, previo eventuale trattamento della goccia stessa con qualche composto, quale le resine che abbiamo studiato.

In questo studio si è anche cercato di costruire semplici modelli circuitali equivalenti, al fine di approssimare gli spettri d'impedenza misurati e di condurre riflessioni fisico-chimiche sul comportamento del sodio e del glucosio in soluzione.



## Bibliografia

DEBYE P., (1929) *Polar Molecules*, The Chemical Catalog Company, New York;

HAWKES J.J., PETHING R., (1988), *Biochimica et Biophysica Acta*, Elsevier Publisher;

HEISE H., MARBACH R., (1994) *Effect of data pretreatment on the noninvasive blood glucose measurement by diffuse reflectance near-IR spectroscopy*, SPIE Proc.;

HEISE H., MARBACH R., (1995) *Optical diffuse reflectance accessory for measurements of skin tissue by near-infrared spectroscopy*. Applied Optics;

JONSCHER A.K., (1983), *Dielectric relaxation in solids*, Chelsea Dielectrics Press, London;

KUNZ I.D., KAUZMANN W., (1974), *Adv Protein Chem*, Elsevier Science B.V.;

MASSART D.L., VANDEGINST B.G.M., BEMING S.N., MISCHOTTE Y., KAUFMAN L., (1988) *Chemometrics; a textbook*. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Science Publishers B.V. K.H. Hazen, (1995), *Glucose determination in biological matrices using near-infrared spectroscopy* [Ph.D. Thesis]. Iowa City, Iowa: University of Iowa.

POITOUT V., ET AL., (1991), *In vivo evaluation of glucose sensor implanted in the subcutaneous tissue of conscious dogs*. Trans Am Soc Artif Intern Organs;

ROBINSON M.R., EATON R.P., HAALAND D.M., KOEPP G.W., TOMAS E.V., STALLARD B.R.,

ROBINSON P.L., (1992) *Non-invasive glucose monitoring in diabetic patients: a preliminary evaluation*, Clinical Chemistry.

## **Ringraziamenti**

*A Flavia, per la sua grandezza di mamma e il suo sostegno. A mio papà, per la sua fiducia.*

*Alla mia ragazza Eleonora, per la stoica pazienza.*

*A nonna Rosi, per la sua eterna vitalità. A nonna Dora, per avermi accudito nell'infanzia.*

*Ai miei zii Katia e Lucio, per i loro preziosi consigli.*

