



Biosensori **Sensori Chimici**

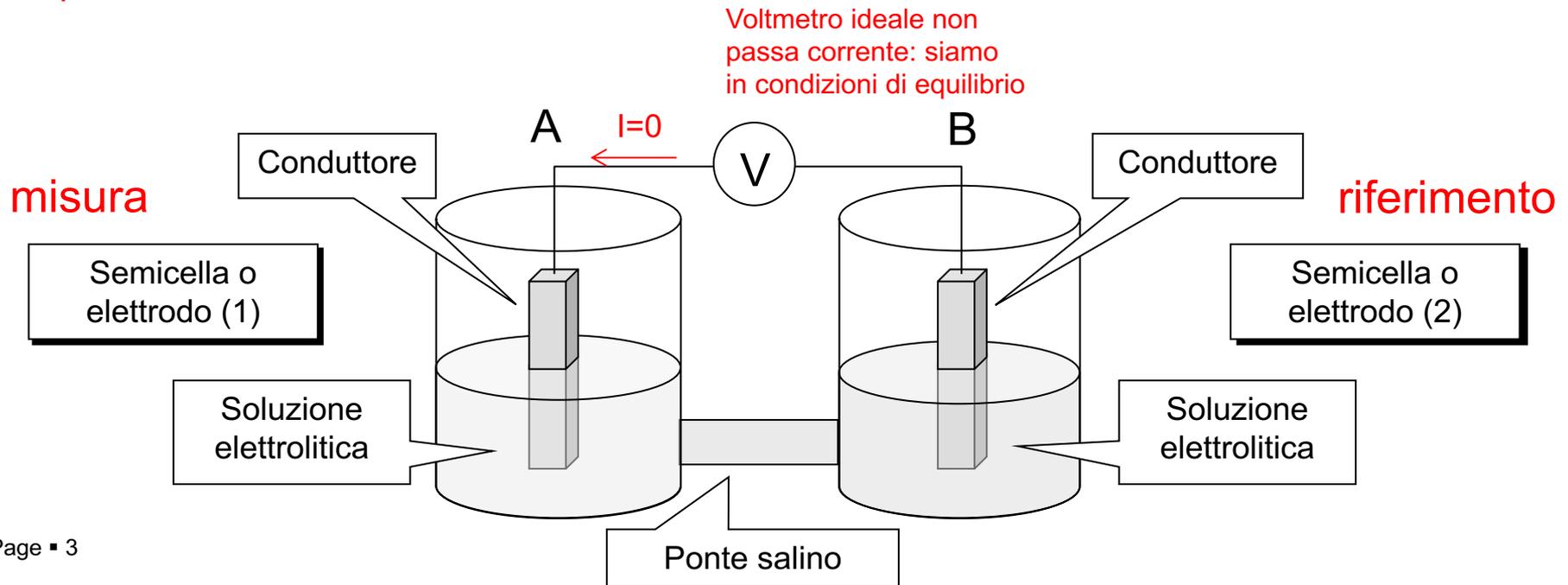
Alessandro Tognetti

Principali applicazioni dei Sensori chimici

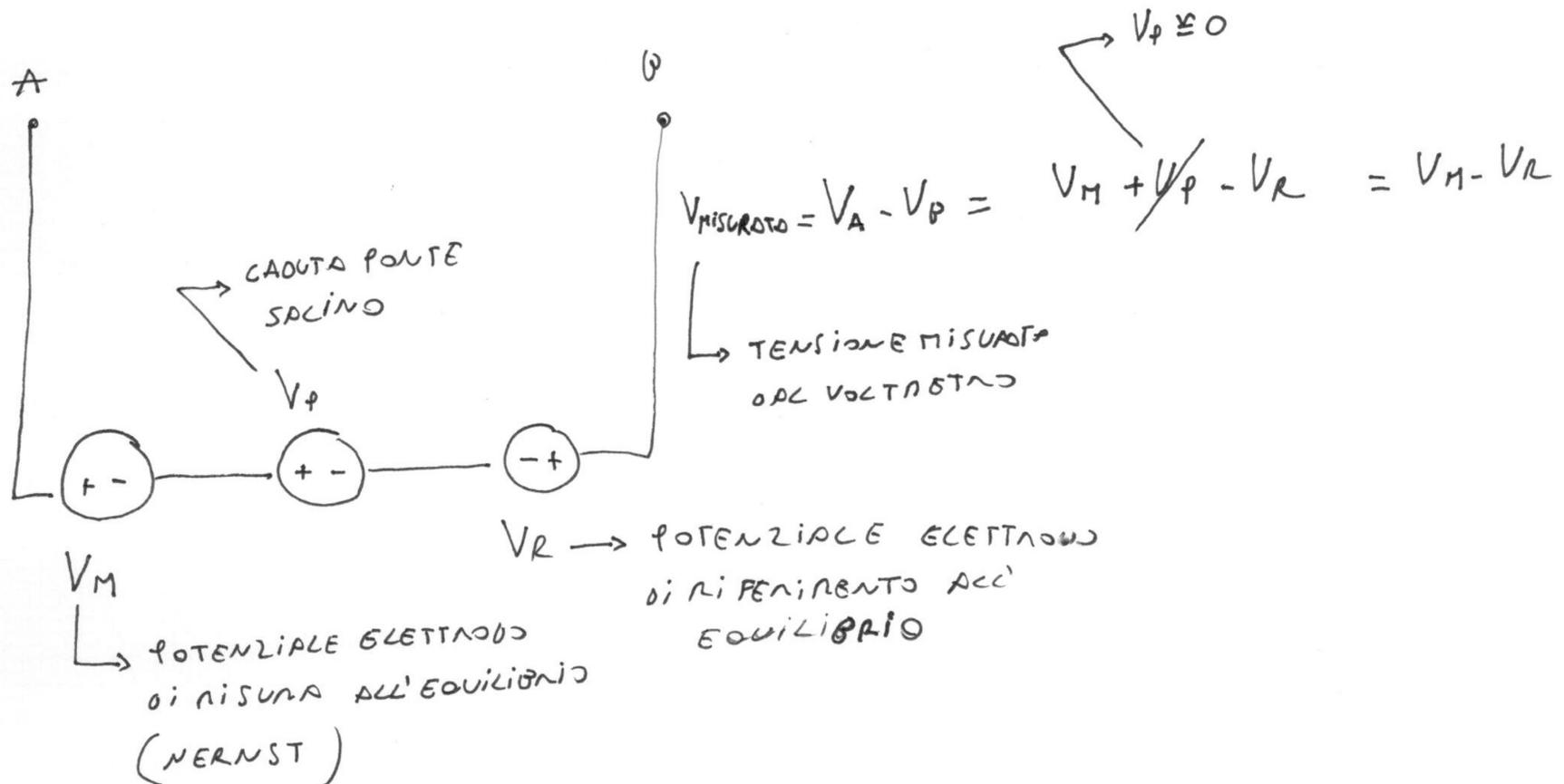
- Ruolo fondamentale degli ioni nella maggior parte dei processi biologici
- Sensori elettrochimici per la misura della concentrazione ionica
 - Elettrodi a vetro per la misura della concentrazione di idrogeno (pH)
 - Elettrodi a vetro per la misura delle concentrazioni di sodio e potassio
 - Elettrodi sensibili a anioni e cationi specifici di interesse clinico (Na, K)
- Misura di gas disciolti nel sangue
 - Misura della pressione parziale di ossigeno (PO_2) e anidride carbonica (PCO_2)
 - Variabili fondamentali ad uso diagnostico

Metodi potenziometrici

- Si sfrutta la reazione di ossido riduzione per la rilevazione della concentrazione di sostanza (elettroliti -> ioni) in soluzione
- Si utilizza una configurazione a **cella elettrochimica** formata dalla combinazione di due elettrodi (**semi-celle elettrochimiche**) messi in contatto tra loro attraverso un **ponte salino** o un **setto poroso** (garantisce la conduzione elettrica senza permettere il passaggio di ioni)
- Elettrodo di misura: immerso nella soluzione contenente la sostanza da determinare
- Elettrodo di riferimento: (immerso in una soluzione elettrolitica contenente concentrazioni note delle specie che partecipano alla reazione redox)
- **Equivalente elettrico?**

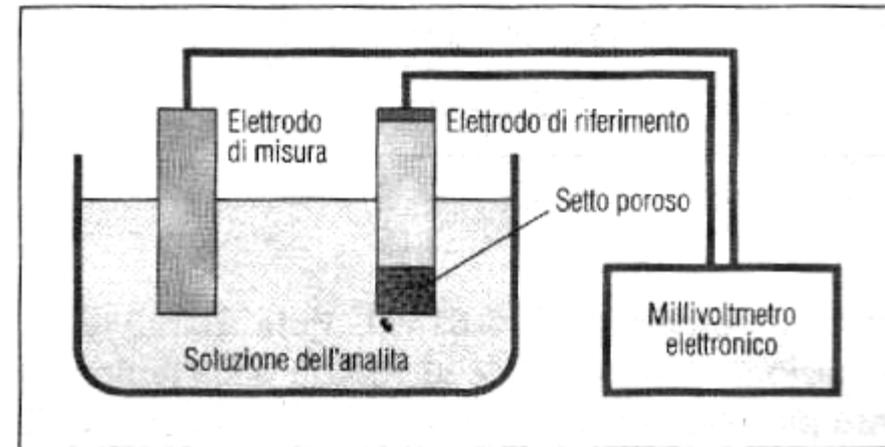


Equivalente elettrico



Metodi potenziometrici

- La tecnica potenziometrica si basa sulla misura della differenza di potenziale che si instaura tra due semicelle (elettrodi) al fine di **determinare la concentrazione di un particolare elettrolita**
- Gli elettrodi di riferimento hanno il potenziale elettrico perfettamente noto e costante, in questo modo ogni variazione di potenziale del sistema sarà imputabile esclusivamente all'elettrodo di misura.
- Gli elettrodi di misura hanno la caratteristica che il loro potenziale, a temperatura costante, dipende dalla concentrazione di uno solo dei sistemi redox presenti in una soluzione.



Voltmetro ideale non passa corrente: siamo in condizioni di equilibrio ($I=0$, vale Nernst)

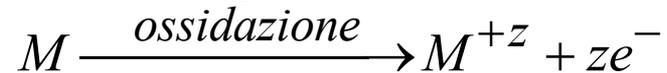
Cella elettrochimica

- Il potenziale dei due elettrodi è funzione dell'attività degli ioni nelle rispettive soluzioni.
- Se la soluzione di una semicella viene mantenuta a concentrazione costante, il proprio potenziale di semicella resterà costante e noto a una certa temperatura (**semicella o elettrodo di riferimento**)
- Il potenziale del secondo elettrodo è funzione dell'attività di uno ione in cui è immerso e può essere misurato rispetto a quello della semicella di riferimento.

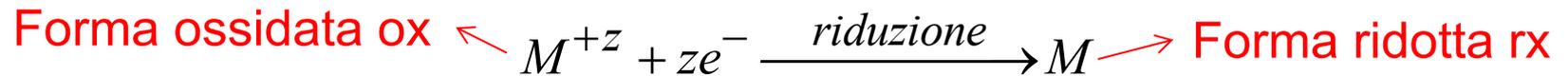
Semicella Elettrochimica (richiami)

- Elettrodi metallici immersi in una soluzione che contiene ioni dello stesso metallo. Avvengono due tipi di reazione

1. Gli atomi del metallo abbandonano il reticolo cristallino e passano in soluzione sotto forma di ioni positivi, sulla superficie del metallo, in contatto con la soluzione, si forma un accumulo di cariche negative



2. I cationi della soluzione si depositano sulla fase metallica combinandosi con la carica negativa superficiale.

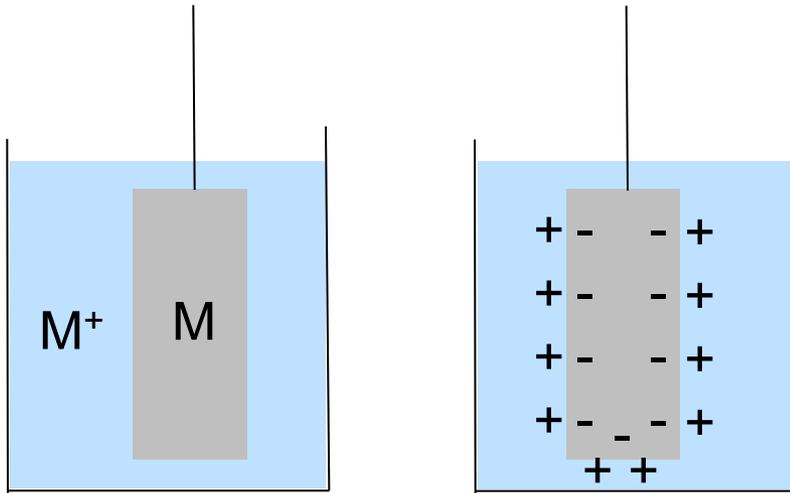


- Si raggiunge (velocemente) una condizione di equilibrio dove la velocità con cui metallo perde cationi che passano in soluzione è uguale a quella con cui gli ioni del metallo in soluzione si depositano sull'elettrodo (legandosi alle cariche elettriche negative accumulate sulla superficie del metallo).



Semicella Elettrochimica (richiami)

- Consideriamo un sistema semplice costituito da una lamina metallica M immersa in una soluzione molto diluita di un suo sale (M^+). Un sistema di questo tipo costituisce una semicella (o semielemento o più semplicemente elettrodo)
- All'inizio sia il metallo che la soluzione sono elettricamente neutri, dopo il contatto si crea uno squilibrio elettrico: la soluzione assume carica positiva (perché alcuni ioni M^+ sono passati in soluzione, mentre la lamina M, che ha trattenuto elettroni, assume carica negativa. Si forma così un **doppio strato elettrico**, cioè una separazione di carica all'interfaccia metallo/soluzione e quindi una differenza di potenziale (d.d.p), fra la lamina e la soluzione, che viene definita potenziale di semicella (o di elettrodo).



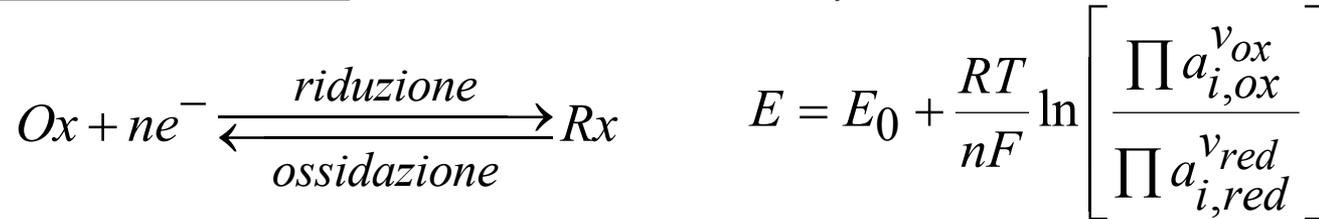
Un sistema di questo genere è detto **semicella** o **elettrodo** e la d.d.p. (differenza di potenziale) all'**interfaccia metallo-soluzione** viene detta semplicemente potenziale di elettrodo o potenziale di semicella.

Doppio strato

Semicella Elettrochimica (richiami)

▪ Equazione di Nernst

- In elettrochimica, l'equazione di Nernst esprime il potenziale di riduzione (E), relativamente al potenziale di riduzione standard (E_0), di un elettrodo o di un semielemento o di una coppia redox di una pila. In altre parole serve per calcolare il potenziale dell'elettrodo in condizioni diverse da quelle standard.



R è la costante universale dei gas, uguale a $8.314472 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$

T è la temperatura assoluta in K

$a_{i,red}$ è l'attività chimica della specie i-esima in forma ridotta, ovvero a destra della freccia nella semi-reazione di riduzione

$a_{i,ox}$ è l'attività chimica della specie i-esima in forma ossidata, ovvero a sinistra della freccia nella semi-reazione di riduzione

v_{red} e v_{ox} sono i loro coefficienti stechiometrici

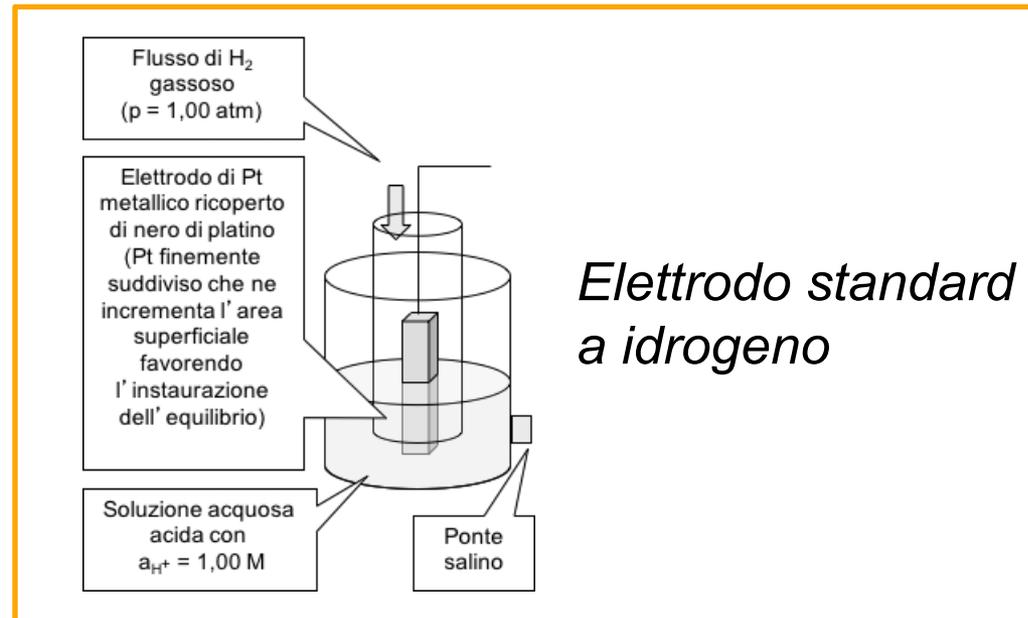
n è il numero di elettroni trasferiti nella semireazione

F è la costante di Faraday, uguale a $96485,309 \text{ C mol}^{-1}$.

L'equazione di Nernst descrive la dipendenza del potenziale di elettrodo all'equilibrio rispetto alle attività (concentrazioni) ioniche. Rappresenta il principio fisico di base dei sensori di tipo potenziometrico: misuriamo un potenziale e da questo ricaviamo la concentrazione della specie di interesse.

Semicella Elettrochimica

- E^0 : Potenziale standard dell'elettrodo (potenziale standard di riduzione) è una grandezza di fondamentale importanza in elettrochimica. Rappresenta il potenziale assunto da un elettrodo in esame, in condizioni di temperatura e pressione standard (25°C e 1 atm), con attività unitaria delle specie redox, riferito all'elettrodo standard a idrogeno (potenziale nullo in condizioni standard per definizione).
 - Dai potenziali standard di riduzione (tabulati), tramite l'equazione di Nernst è possibile risalire al potenziale di cella all'equilibrio, da cui si ottiene il valore del potenziale di cella.



Principi di elettrochimica

L'equazione di Nernst dipende dall'attività (concentrazione) delle specie chimiche. **La misura del potenziale** può essere utilizzata per risalire a concentrazioni di interesse (**metodi potenziometrici**).

Potenziali normali di riduzione a 25° C

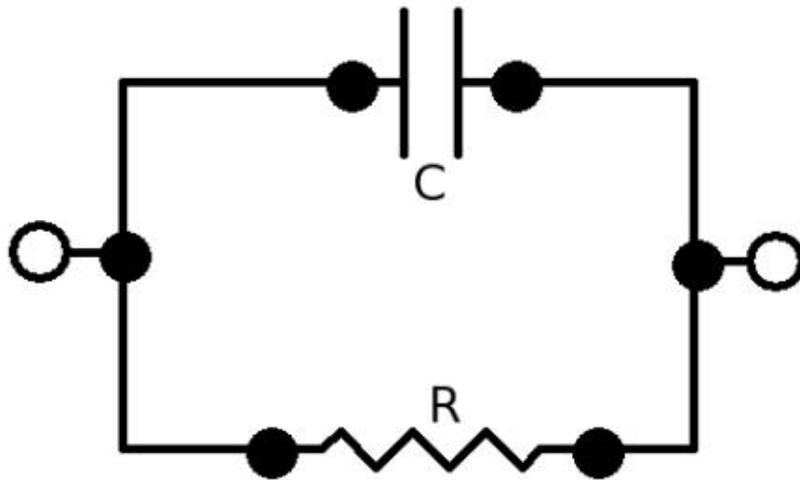
Semireazione di riduzione	Pot. std (E°)
$F_2(g) + 2e^- = 2F^-$	+ 2,87 V
$H_2O_2 + 2H^+ + 2e^- = 2H_2O$	+ 1,77 V
$MnO_4^- + 8H^+ + 5e^- = Mn^{2+} + 4H_2O$	+ 1,51 V
$PbO_2 + 4H^+ + 2e^- = Pb^{2+} + 2H_2O$	+ 1,44 V
$Au^{3+} + 3e^- = Au(s)$	+ 1,50 V
$Cl_2(g) + 2e^- = 2Cl^-$	+ 1,36 V
$Cr_2O_7^{2-} + 14H^+ + 6e^- = 2Cr^{3+} + 7H_2O$	+ 1,33 V
$MnO_2(s) + 4H^+ + 2e^- = Mn^{2+} + 2H_2O$	+ 1,23 V
$O_2(g) + 4H^+ + 4e^- = 2H_2O$	+ 1,23 V
$Br_2(l) + 2e^- = 2Br^-$	+ 1,07 V
$NO_3^- + 4H^+ + 3e^- = NO(g) + 2H_2O$	+ 0,96 V
$2NO_3^- + 4H^+ + 2e^- = N_2O_4(g) + 2H_2O$	+ 0,80 V
$Ag^+ + e^- = Ag(s)$	+ 0,80 V
$Hg_2^{2+} + 2e^- = 2Hg(l)$	+ 0,79 V
$Fe^{3+} + e^- = Fe^{2+}$	+ 0,77 V
$O_2(g) + 2H^+ + 2e^- = H_2O_2$	+ 0,68 V
$I_2 + 2e^- = 2I^-$	+ 0,54 V
$Cu^+ + e^- = Cu(s)$	+ 0,52 V

$Cu^{2+} + 2e^- = Cu(s)$	+ 0,34 V
$Cu^{2+} + e^- = Cu^+$	+ 0,15 V
$Sn^{4+} + 2e^- = Sn^{2+}$	+ 0,15 V
$S(s) + 2H^+ + 2e^- = H_2S(g)$	+ 0,14 V
$NO_3^- + H_2O + 2e^- = NO_2^- + 2OH^-$	+ 0,01 V
$2H^+ + 2e^- = H_2(g)$	0,00 V
$Pb^{2+} + 2e^- = Pb(s)$	- 0,13 V
$Sn^{2+} + 2e^- = Sn(s)$	- 0,14 V
$Ni^{2+} + 2e^- = Ni(s)$	- 0,25V
$Co^{2+} + 2e^- = Co(s)$	- 0,28 V
$Cd^{2+} + 2e^- = Cd(s)$	- 0,40 V
$Fe^{2+} + 2e^- = Fe(s)$	- 0,44 V
$Cr^{3+} + 3e^- = Cr(s)$	- 0,74 V
$Zn^{2+} + 2e^- = Zn(s)$	- 0,76 V
$2H_2O + 2e^- = H_2(g) + 2OH^-$	- 0,83 V
$Mn^{2+} + 2e^- = Mn(s)$	- 1,18 V
$Al^{3+} + 3e^- = Al(s)$	- 1,66 V
$Mg^{2+} + 2e^- = Mg(s)$	- 2,37 V
$Na^+ + e^- = Na(s)$	- 2,71 V
$Ca^{2+} + 2e^- = Ca(s)$	- 2,87 V
$K^+ + e^- = K(s)$	- 2,93 V
$Li^+ + e^- = Li(s)$	- 3,04 V

Elettrodi di riferimento

La misurazione potenziometrica dell'attività ionica fa uso di due elettrodi: **indicatore** e **riferimento**. Il primo risponde in maniera nota e riproducibile a variazioni dell'attività ionica. Il secondo garantisce la continuità elettrica alla soluzione sotto esame (chiusura circuito).

Gli elettrodi di riferimento devono essere il più possibile **non polarizzabili**: se fossero polarizzabili il loro potenziale di elettrodo dipenderebbe dalle condizioni esterne e non dalle sole proprietà dell'interfaccia



Condizione voluta:
 $R \rightarrow 0$

- Elettrodi seconda specie : caratterizzati da bassa resistenza dovuta alla cinetica di trasferimento elettronico estremamente rapida.
 - Elettrodo Ag/Cl
 - Elettrodo metallo/ossido metallo

Possibili applicazioni della cella elettrochimica

Misure di pH

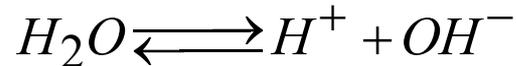
- Elettrodi metallo/ossido metallo
- Elettrodi a vetro

Misure di Ioni in Soluzione

- Misure di Sodio e Potassio
- Elettrodi a membrana
- Elettrodi ionoselettivi
- Elettrodo per la misura del potassio nel sangue
- Elettrodi per la misurazione del calcio

Misure pH

- Misura del grado di acidità di una soluzione
 - Fondamentale importanza in biochimica
- In acqua pura le attività degli ioni H^+ e OH^- sono uguali, reazione di equilibrio



- K_w costante

$$K_w = [H^+][OH^-] = 10^{-14} M^2$$

- Se è aggiunto un acido $[H^+]$ cresce e $[OH^-]$ diminuisce mantenendo costante K_w

$$pH = -\log(a_{H^+})$$

$$[H^+] = [OH^-] = 10^{-7} \longrightarrow pH = 7 \quad \text{Acqua pura} \quad \begin{array}{l} pH < 7 \text{ acido} \\ pH > 7 \text{ base} \end{array}$$

Elettrodo metallo/ossido metallo

- Elettrodi costituiti da un metallo ricoperto da un suo ossido. Sono da considerarsi un caso particolare di elettrodi di seconda specie (dove il sale poco solubile è l'ossido stesso).
 - La parte anionica del sale insolubile è presente nell'equazione di dissociazione del solvente (H_2O)
 - Possono essere usati come sensori di pH
 - Esempio Elettrodo Antimonio (Sb) / Ossido di Antimonio (Sb_2O_3)

Reazione: $Sb_2O_3 + 6 H^+ + 6e^- \rightarrow 2Sb + 3H_2O$

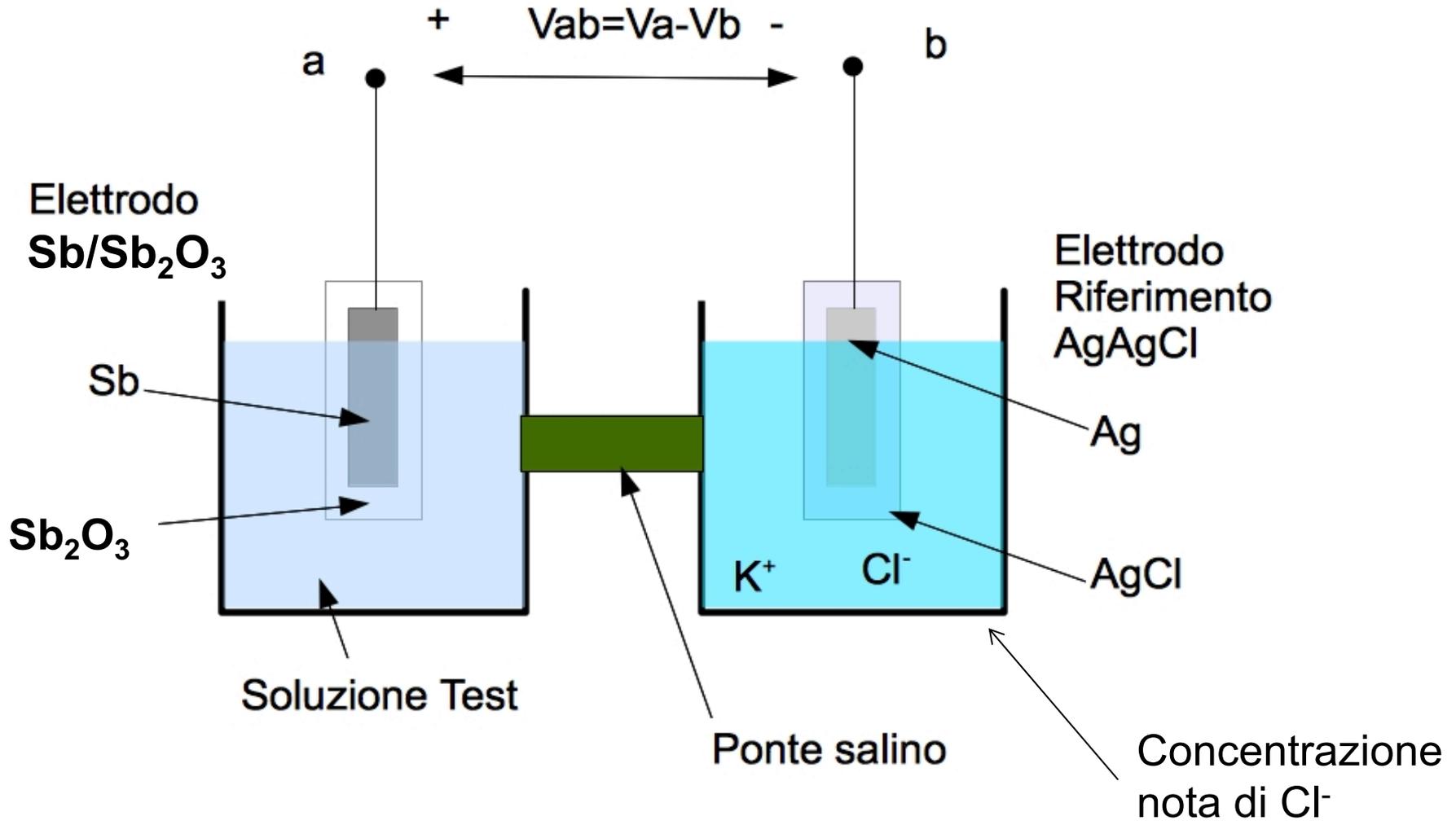
$$E = E^0_{(Sb_2O_3/Sb)} + \frac{RT}{6F} \ln([H^+]^6) = E^0_{(Sb_2O_3/Sb)} + \overset{1/\log(e)}{\boxed{2.303}} \frac{RT}{6F} \log([H^+]^6) =$$
$$= E^0_{(Sb_2O_3/Sb)} + 2.303 \frac{RT}{F} \log([H^+]) = E^0_{(Sb_2O_3/Sb)} - 2.303 \frac{RT}{F} pH$$

$$E^0_{(Sb_2O_3/Sb)} = 0.152V$$

$$pH = -\log[H^+]$$

Associando all'elettrodo di antimonio/ossido di antimonio un secondo elettrodo di riferimento è possibile rilevare il pH

Esempio: strumento per la misura del pH tramite elettrodo Sb/Sb₂O₃



Misure pH in fluidi biologici

Molti dei processi naturali sono altamente dipendenti dal pH.

Per gli organismi viventi è essenziale che il pH dei fluidi biologici sia mantenuto all'interno di un range molto ristretto.

Nei liquidi fisiologici umani, sangue e liquido extracellulare, il pH deve necessariamente essere compreso tra 7 e 8 (normalmente $\text{pH} = 7.4$), altrimenti si ha il decesso del soggetto.

I meccanismi grazie ai quali l'organismo riesce a bilanciare eventuali squilibri sono essenzialmente tre:

Meccanismi Chimici : Sistemi Tampone (intervento in alcuni secondi);

Meccanismo Respiratorio : variazione di frequenza e profondità di respirazione (intervento in qualche minuto);

Meccanismo Renale : filtraggio ematico (intervento in ore o giorni);