



Biosensori **Sensori Chimici**

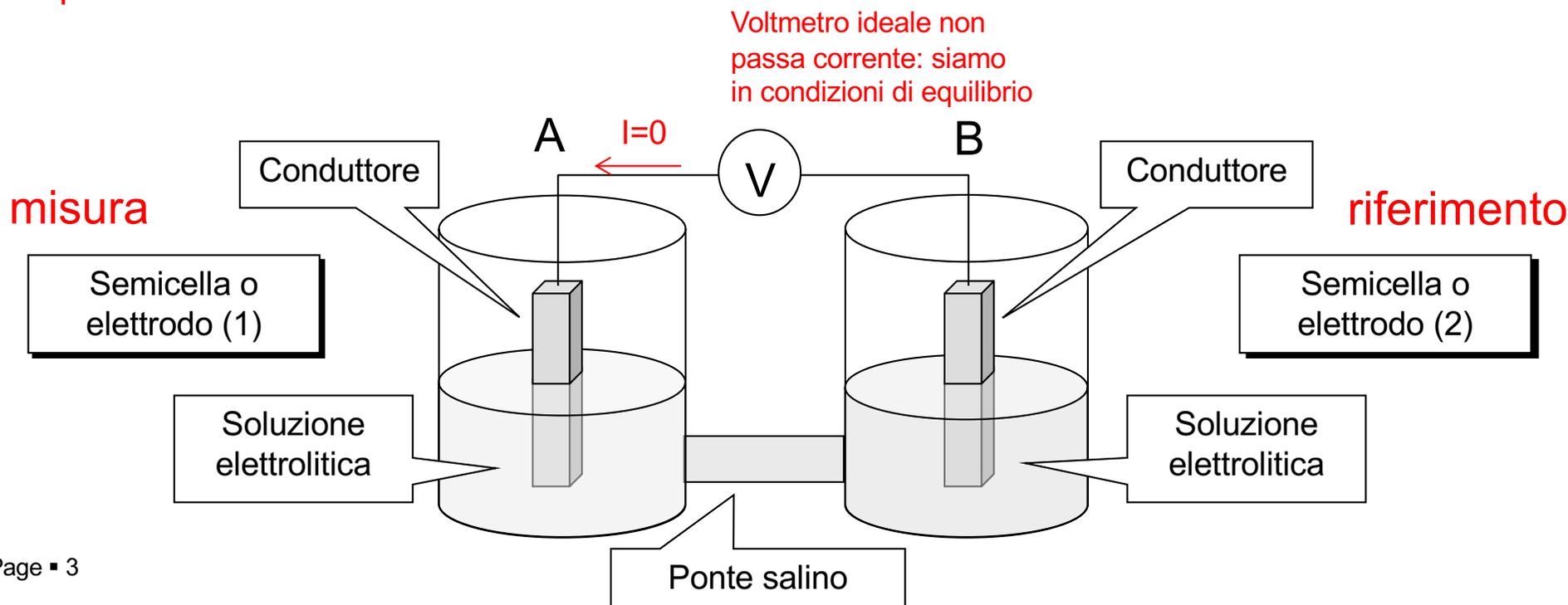
Alessandro Tognetti

Principali applicazioni dei Sensori chimici

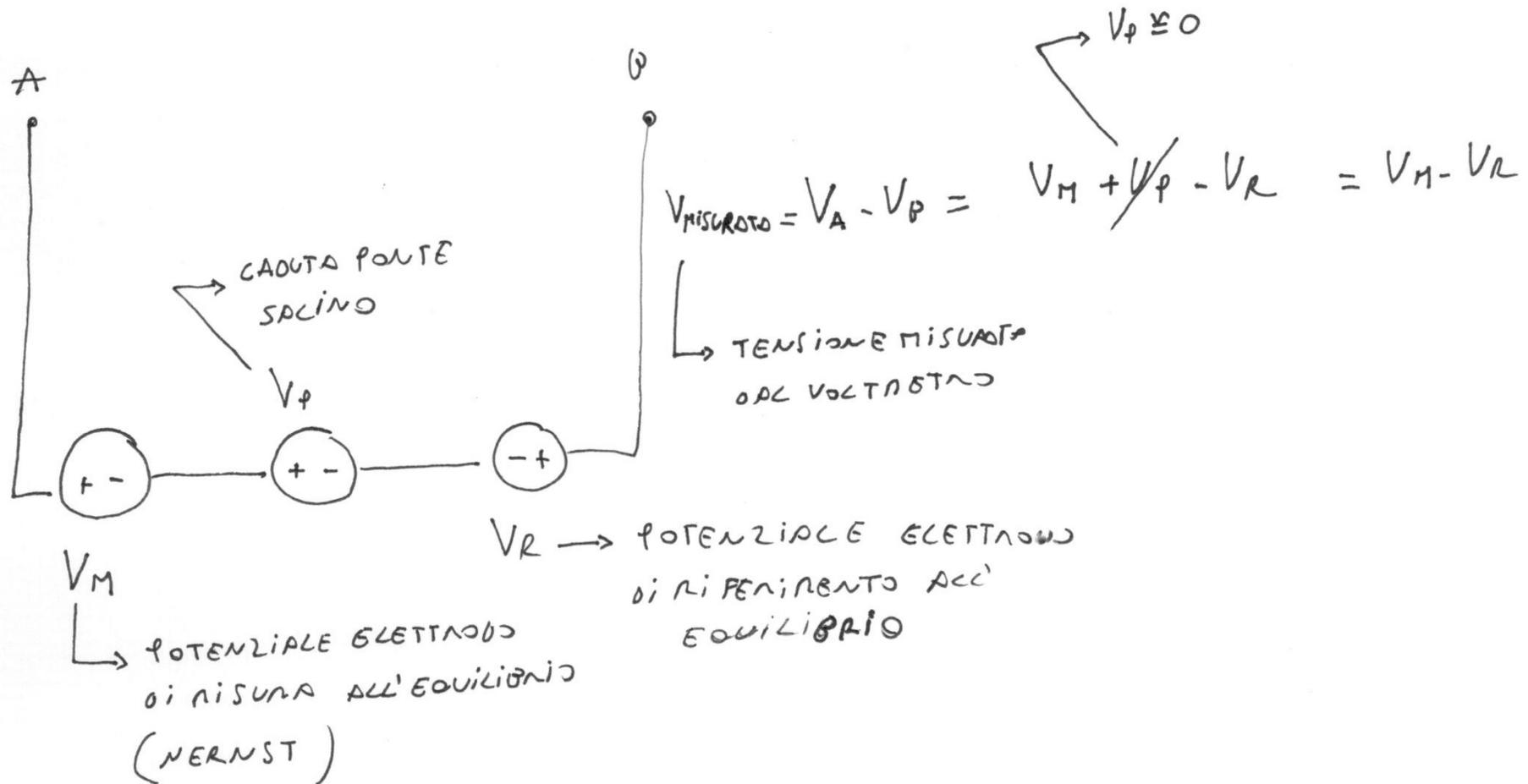
- Ruolo fondamentale degli ioni nella maggior parte dei processi biologici
- Sensori elettrochimici per la misura della concentrazione ionica
 - Elettrodi a vetro per la misura della concentrazione di idrogeno (pH)
 - Elettrodi a vetro per la misura delle concentrazioni di sodio e potassio
 - Elettrodi 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?**

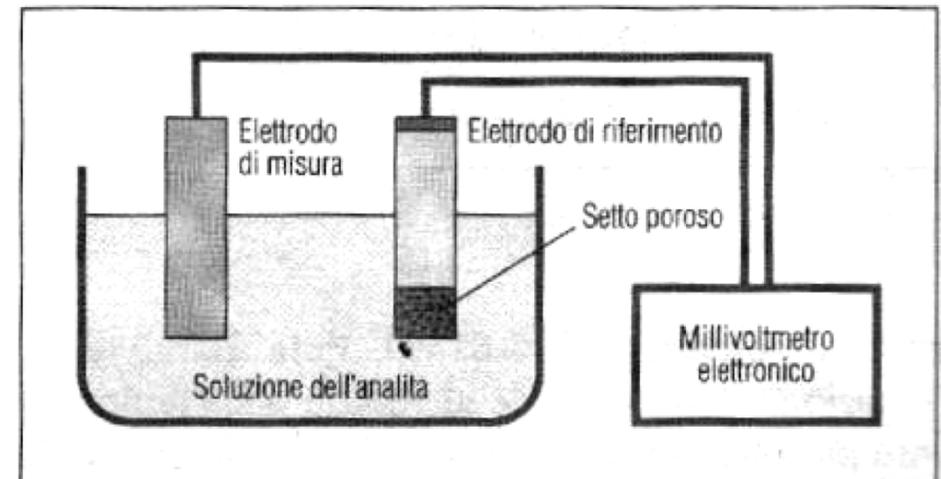


Equivalente elettrico



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.

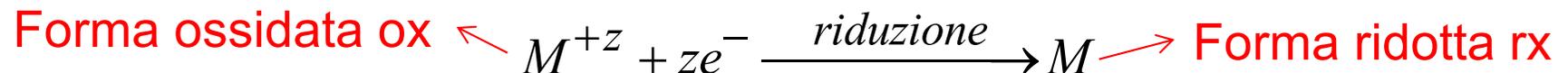
Semicella Elettrochimica (richiami)

- 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 sottoforma 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.

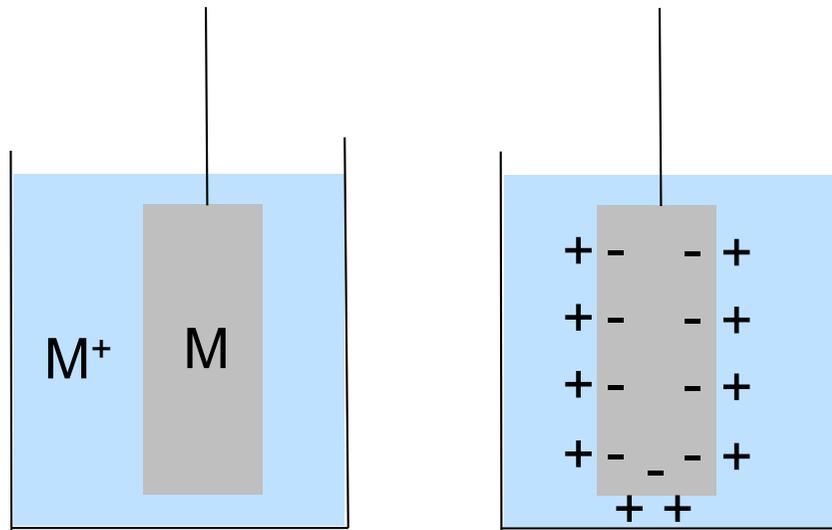


- Si raggiunge (velocemente) una condizione di equilibrio dove la velocità con cui metallo perde cationi che passano in soluzione è uguale a quella con cui gli ioni del metallo in soluzione si depositano sull'elettrodo (legandosi alle cariche elettriche negative accumulate sulla superficie del metallo).



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).

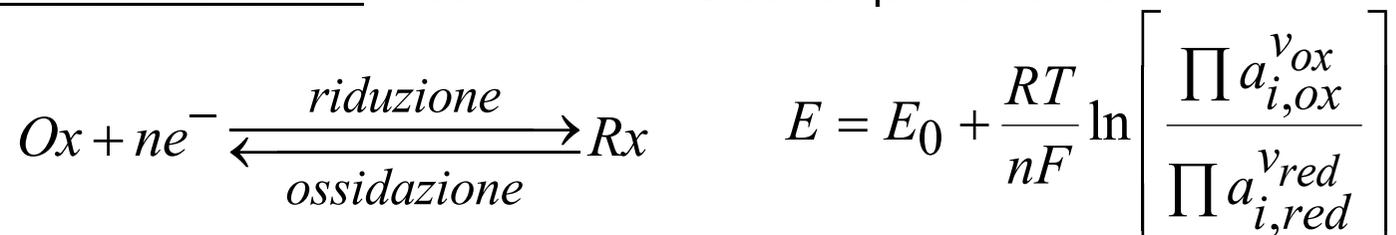


Un sistema di questo genere è detto **semicella** o **elettrodo** e la d.d.p. (differenza di potenziale) all'**interfaccia metallo-soluzione** viene detta semplicemente potenziale di elettrodo o potenziale di semicella.

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

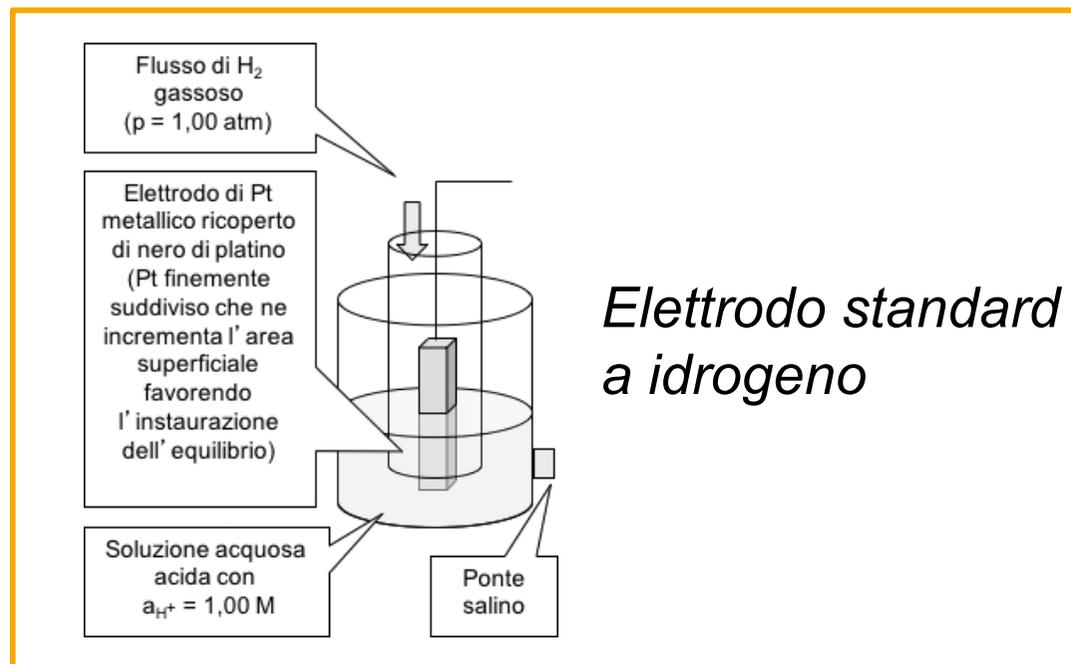
n è il numero di elettroni trasferiti nella semireazione

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

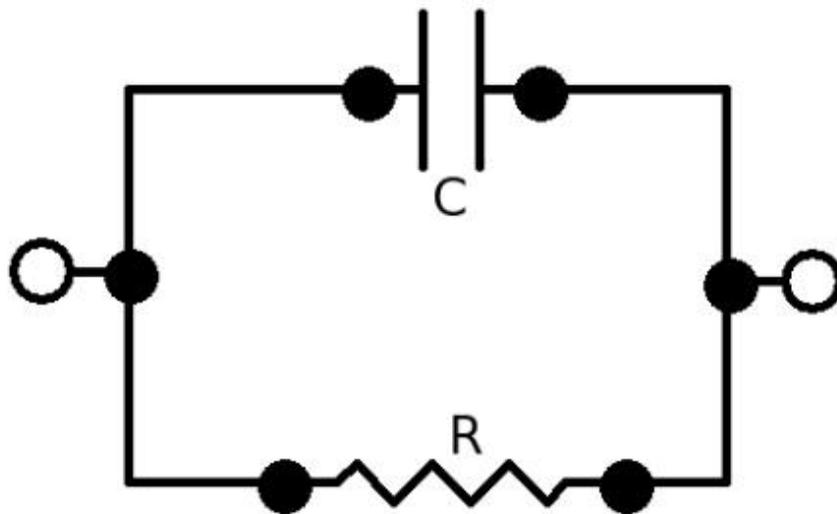
Semireazione di riduzione	Pot. std (E°)
$F_2(g) + 2e^- = 2F^-$	+ 2,87 V
$H_2O_2 + 2H^+ + 2e^- = 2H_2O$	+ 1,77 V
$MnO_4^- + 8H^+ + 5e^- = Mn^{2+} + 4H_2O$	+ 1,51 V
$PbO_2 + 4H^+ + 2e^- = Pb^{2+} + 2H_2O$	+ 1,44 V
$Au^{3+} + 3e^- = Au(s)$	+ 1,50 V
$Cl_2(g) + 2e^- = 2Cl^-$	+ 1,36 V
$Cr_2O_7^{2-} + 14H^+ + 6e^- = 2Cr^{3+} + 7H_2O$	+ 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
$Ni^{2+} + 2e^- = Ni(s)$	- 0,25 V
$Co^{2+} + 2e^- = Co(s)$	- 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

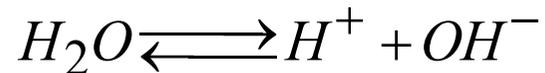
- Elettrodi metallo/ossido metallo
- Elettrodi a vetro

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 (H₂O)
 - Possono essere usati come sensori di pH
 - Esempio Elettrodo Antimonio (Sb) / Ossido di Antimonio (Sb₂O₃)

Reazione: $\text{Sb}_2\text{O}_3 + 6 \text{H}^+ + 6\text{e}^- \rightarrow 2\text{Sb} + 3\text{H}_2\text{O}$

$$E = E^0_{(\text{Sb}_2\text{O}_3/\text{Sb})} + \frac{RT}{6F} \ln([H^+]^6) = E^0_{(\text{Sb}_2\text{O}_3/\text{Sb})} + \boxed{2.303} \frac{RT}{6F} \log([H^+]^6) =$$

1/log(e)
↓

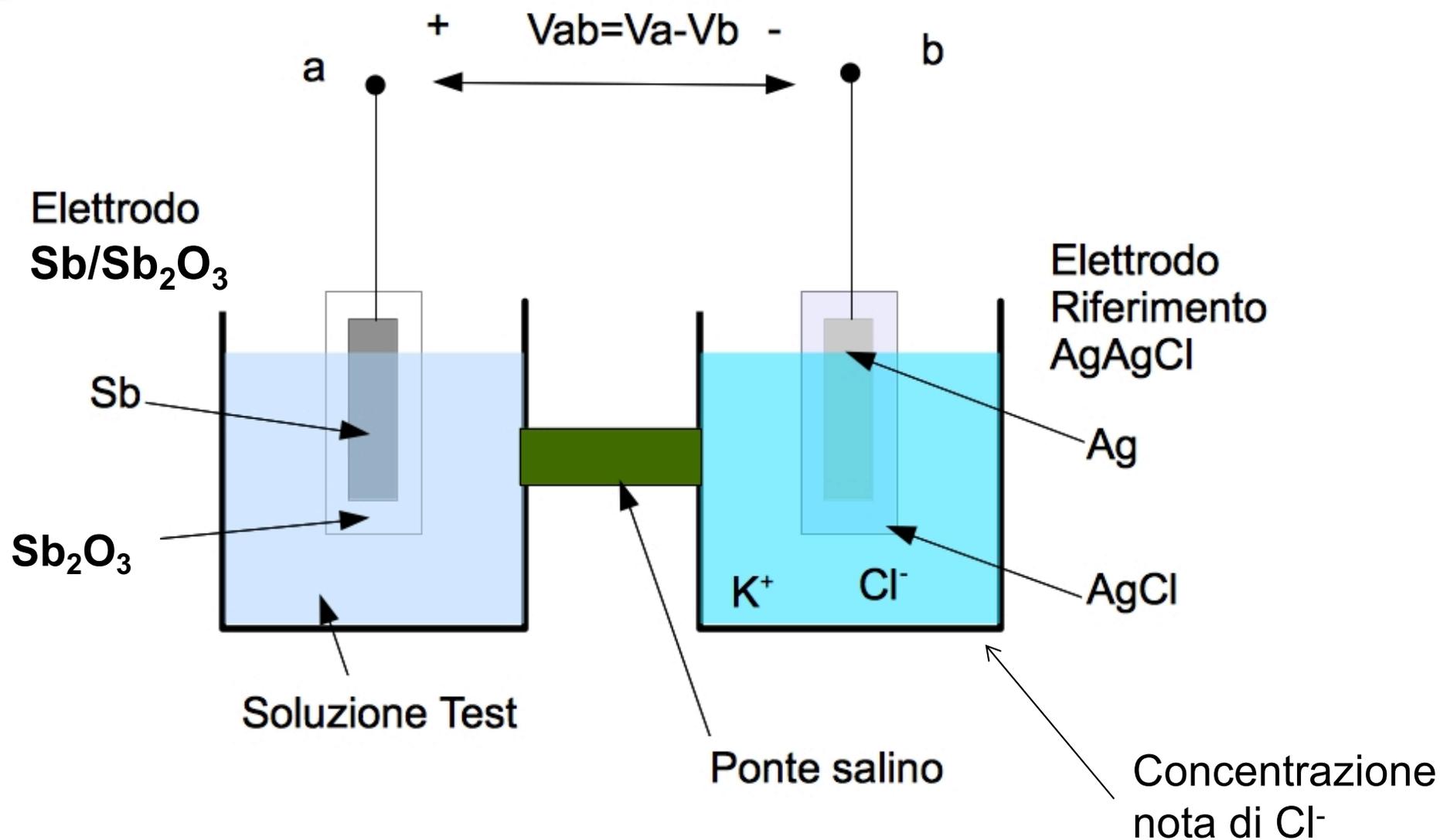
$$= E^0_{(\text{Sb}_2\text{O}_3/\text{Sb})} + 2.303 \frac{RT}{F} \log([H^+]) = E^0_{(\text{Sb}_2\text{O}_3/\text{Sb})} - 2.303 \frac{RT}{F} \text{pH}$$

$$E^0_{(\text{Sb}_2\text{O}_3/\text{Sb})} = 0.152\text{V}$$

$$\text{pH} = -\log[H^+]$$

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 $\text{Sb}/\text{Sb}_2\text{O}_3$



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);

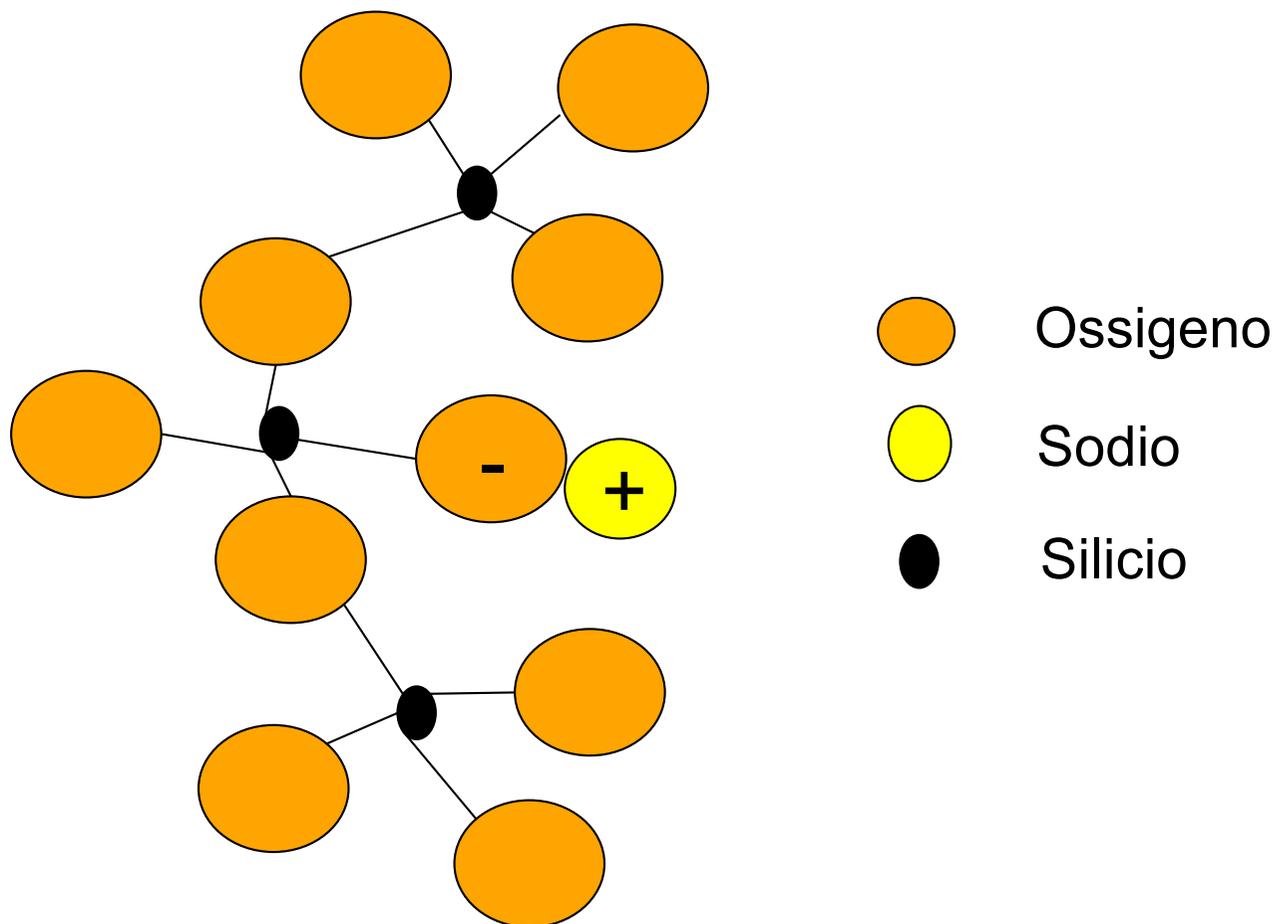
Meccanismo Renale : filtraggio ematico (intervento in ore o giorni);

Elettrodi a vetro

- Fanno parte della classe degli elettrodi a membrana
 - Una membrana di vetro di spessore molto esiguo (0,003- 0,1mm) separa due soluzioni elettrolitiche.
- Su di essa si può rilevare (tramite **due elettrodi di riferimento**) una differenza di potenziale che dipende in maniera riproducibile e definita dalle attività dell'**idrogeno**
- Cambiando la composizione del vetro:
 - Potenziale dipendente in maniera logaritmica dall'attività di uno ione specifico, trascurando l'attività di altri ioni.
- Principio di funzionamento:
 - . I vetri silicati sono composti da una rete di atomi di silicio posti al centro di tetraedri formati da quattro atomi di ossigeno.

Viene misurato il potenziale a cavallo di una membrana di vetro che garantisce la conduzione elettrica tra le due soluzioni

Struttura del vetro: sodio-silicato



La presenza di ossidi di metalli alcalini causa la rottura di alcuni legami silicio-ossigeno, quindi gli atomi metallici si legano ad atomi di ossigeno carichi negativamente legati ad un solo atomo di silicio.

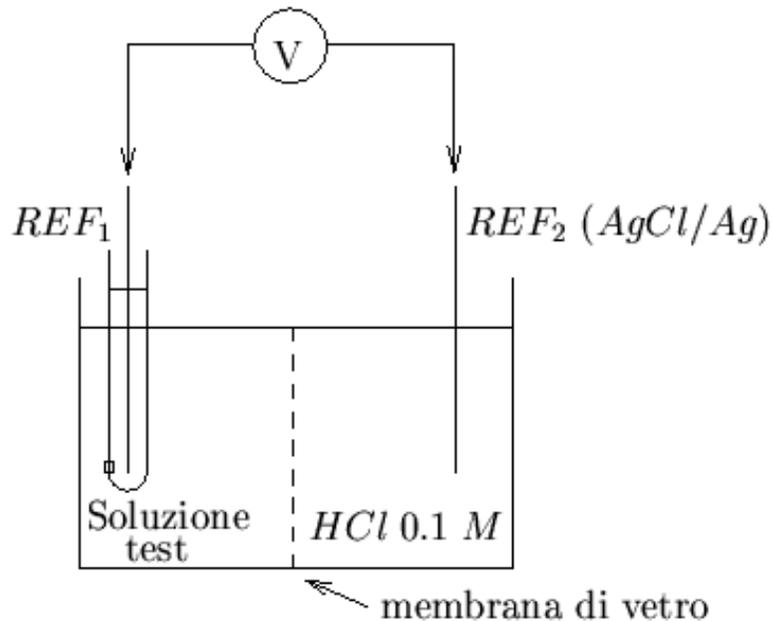
La debolezza di questo legame e l'esistenza di siti interstiziali forniscono agli atomi metallici un certo grado di mobilità.

Per i vetri sodio-silicati, **la conducibilità deriva proprio dagli ioni sodio che si spostano da una posizione interstiziale all'altra.**

Visto che la conduzione avviene per mezzo di un processo attivato, secondo la statistica di Boltzman la resistività dipende dalla temperatura secondo l'esponenziale di $(-E_a/KT)$, in cui E_a è l'energia di attivazione. Questa legge risulta verificata per la maggior parte dei vetri iono-selettivi.

Un'altra caratteristica peculiare del legame ionico con metalli alcalini è la facilità con cui questi atomi possono essere sostituiti da ioni idrogeno: **grazie a questo scambio gli elettrodi di vetro possono rispondere agli ioni H^+ e ad altri ioni (K^+ , Na^+ , Li^+ ...)**

Elettrodo a vetro



L'elettrodo a vetro e' rappresentato dalla meta' di destra della cella, membrana di vetro compresa. Abbiamo dunque un elettrodo di riferimento (generalmente Ag/AgCl) immerso in una soluzione ad attivita' protonica costante (generalmente **HCl** 0.1 M) e separata dalla soluzione oggetto di misura (soluzione test) mediante una membrana di vetro. **Attraverso tale membrana si genera una differenza di potenziale che dipende dall'attivita' degli ioni H⁺ nella soluzione test.** In quest'ultima e' immerso un secondo elettrodo di riferimento (collegato con un ponte salino alla soluzione di test)

La conducibilità nella membrana e' assicurata dalla migrazione interstiziale dei cationi presenti nel vetro. Schematizzabile come:

Membrana vetro|| Soluzione di test|| Elettrodo di riferimento

Ag | AgCl | HCl || membrana di vetro|| soluzione di test|| ponte salino || HCl | AgCl | Ag

|| indica la barriera diffusiva che impedisce (vetro, ponte salino) il mescolarsi delle soluzioni

La differenza di potenziale è data dalla somma delle ddp alle 4 interfacce: (1) elettrodo di riferimento 1; (2) ponte salino; (3) membrana vetro; (4) elettrodo di riferimento 2

Elettrodo a vetro

- Gli ioni H^+ non attraversano la membrana che viene attraversata solo dagli ioni Na^+ . Quando degli ioni diffondono tra due zone a diversa attività c'è una variazione dell'energia libera che viene sfruttata dal pH -metro per la misura

$$ddp = E_1 + E_t + E_g - E_2$$

dove **E1 ed E2** sono i **potenziali elettrodi dei due elettrodi di riferimento**, **Et e'** il **potenziale eventualmente presente all'interfaccia fra la soluzione test e l'elettrodo di riferimento (sul ponte salino)**, **Eg** è la **differenza di potenziale dovuta alla membrana di vetro**.

Nell'espressione sopra scritta, E1 ed E2 sono **costanti note**, in quanto potenziali elettrodi di elettrodi di riferimento (concentrazione elettrolita costante). Quando il pH della soluzione test cambia, in generale cambieranno sia Et che Eg. **Tuttavia, le variazioni di Et sono di solito trascurabili**, per cui le variazioni di differenza di potenziale al variare del pH nella soluzione test sono dovute essenzialmente alle variazioni di Eg

Il potenziale che si viene a creare su un elettrodo di vetro è pari a:

$$E = E^0 + \frac{RT}{F} \ln \left(a_i + \sum_j K_{ij} a_j \right)$$

in cui E^0 è una costante (**ma non il potenziale standard!**), a_i e a_j le attività degli ioni i-esimo e j-esimo (nella soluzione di test) e K_{ij} è una costante che tiene conto della sensibilità relativa dell'elettrodo ai due tipi di ioni ed è pari a:

$$K_{ij} = \left(\frac{a_i}{a_j} \right) \cdot \left(\frac{a_j^*}{a_i^*} \right) \cdot \left(\frac{\mu_j^*}{\mu_i^*} \right)$$

Le a^* e le μ^* sono, rispettivamente, le attività e le mobilità degli ioni all'interno del vetro.

Ad esempio, se i due ioni sono H^+ e Na^+ , si avrà:

$$E = E^0 + \frac{RT}{F} \ln \left(a_{H^+} + K_{H^+/Na^+} \cdot a_{Na^+} \right)$$

Quindi, quanto più piccolo sarà $K_{H^+/Na^+} \cdot a_{Na^+}$

tanto più la caratteristica dell'elettrodo sarà vicina alla relazione lineare tra E e il pH.

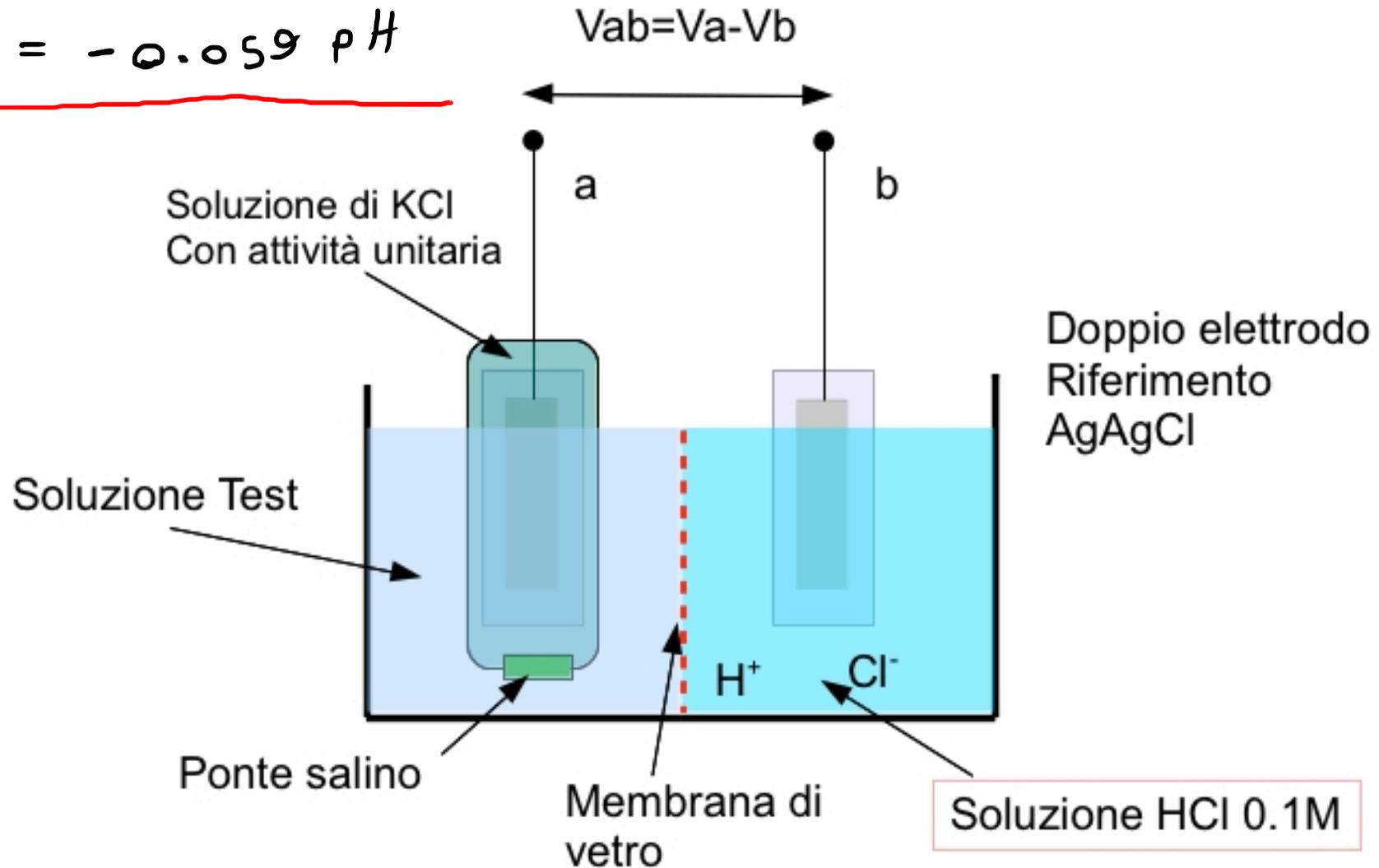
Elettrodo a vetro

- La bontà di un elettrodo a vetro è determinata essenzialmente dalle proprietà della membrana di vetro.
- Un buon vetro per misura di pH deve soddisfare le seguenti esigenze:
 - Specificità al pH;
 - operatività su un range di pH il più ampio possibile;
 - stabilità chimica;
- Il meccanismo microscopico di funzionamento di questi vetri è legato alle proprietà di trasporto della membrana e in particolare ad un equilibrio di scambio degli ioni sodio nel materiale siliceo con i protoni delle soluzioni interna ed esterna.

$$\frac{RT}{F} \ln \left(\frac{a_{H^+_{test}}}{a_{H^+_{rif}}} \right) = \frac{RT}{F} \ln(a_{H^+_{test}}) - \frac{RT}{F} \ln(a_{H^+_{rif}}) = \frac{RT}{F} \ln(a_{H^+_{test}}) + E_0$$
$$E_0 = -\frac{RT}{F} \ln(a_{H^+_{rif}}) = -0.0256 \ln(0.1) = -0.0256 \cdot 2.303 \log(0.1) = 0.059V$$

Esempio: schematizzazione dello strumento per la misura del pH tramite elettrodo a vetro

$$V_{AB} = -0.059 \text{ pH}$$

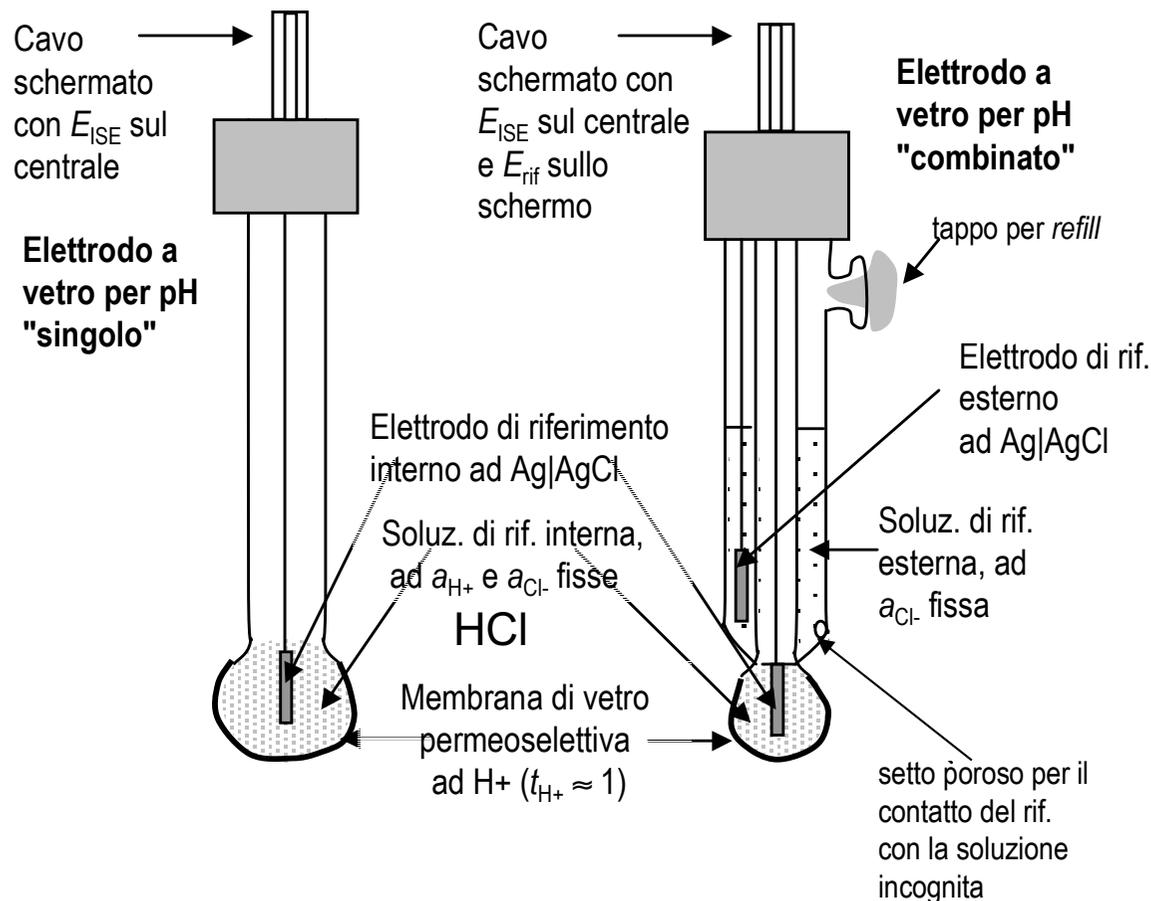


Esempi di elettrodi a vetro reali

Nel caso combinato il dispositivo per la misura si trova in un unico assemblaggio, cioè il riferimento esterno fa corpo unico con l'elettrodo a vetro.

“Singolo”

“Combinato”



Il cosiddetto modello “combinato” dell’elettrodo a vetro porta, per comodità, un seconda contenitore contenente l’elettrodo e la soluzione di riferimento esterni, che comunicano con la soluzione esterna tramite un setto poroso. Si tratta a tutti gli effetti di una coppia di elettrodi, e il cavo che va allo strumento porta sul centrale il segnale dell’elettrodo a vetro e sulla guaina metallica esterna il segnale dell’elettrodo di riferimento.

Misure di Sodio e Potassio

Non è possibile trovare una composizione del vetro che renda il vetro sensibile ad un solo catione ed al tempo stesso insensibile a tutti gli altri.

Questa considerazione non deve tuttavia trarre in inganno: basta assicurarsi che le condizioni di impiego dell'elettrodo siano adatte. Ad esempio, per il vetro sodico NAS11-18, il potenziale dell'elettrodo (per la **rilevazione del sodio**) è approssimativamente:

$$E = E^0 + \frac{RT}{F} \ln(a_{Na^+} + 10a_{H^+} + 0,005a_{K^+})$$

Non lo utilizziamo dove la concentrazione del potassio sia centinaia di volte maggiore di quella del sodio.

Questo elettrodo va benissimo per il monitoraggio del liquido extracellulare dei mammiferi, in cui $pH \approx 7$, $K^+ \approx 5 \cdot 10^{-3} M$ e $Na^+ \approx 153 \cdot 10^{-3} M$.

Le cose vanno meno bene per il **vetro selettivo al potassio** (NAS27-4): il potenziale dell'elettrodo, trascurando pH, è:

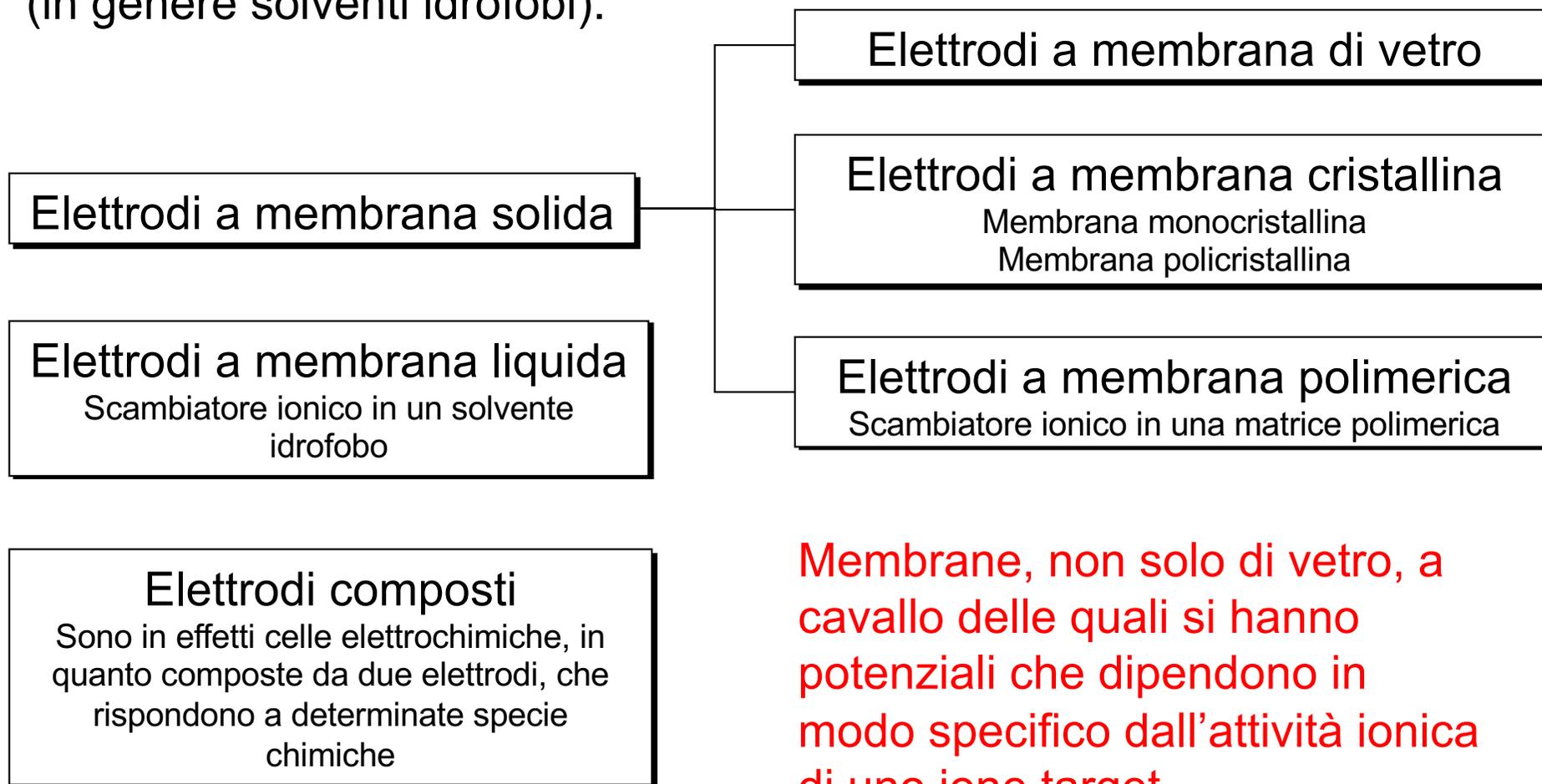
$$E = E^0 + \frac{RT}{F} \ln(a_{K^+} + 10a_{Na^+})$$

La misura del potassio nel liquido **extracellulare** è influenzata fortemente dalle variazioni dell'attività dello ione sodio.

La difficoltà può essere in parte superata effettuando una seconda misura con un elettrodo selettivo al sodio. Al contrario, nella maggior parte delle misurazioni **intracellulari** la concentrazione dello ione potassio è più di dieci volte quella del sodio, quindi l'interferenza può essere trascurata.

Elettrodi a membrana iono-selettiva

Le membrane degli elettrodi ionoselettivi possono essere costituite da diversi materiali, sia solidi (vetro, polimeri, cristalli inorganici) che liquidi (in genere solventi idrofobi).



Membrane, non solo di vetro, a cavallo delle quali si hanno potenziali che dipendono in modo specifico dall'attività ionica di uno ione target

Elettrodi a membrana iono-selettiva

- Oltre all'elettrodo a vetro per la misura del pH, esistono elettrodi **ISE (ion-selective electrode)** per tanti altri ioni come ad es. K^+ , Ca^{2+} , NH_4^+ , NO_3^- , Na^+ , I^- ecc., che trovano ampia applicazione nel settore chimico-clinico.
- La loro selettività è stata via via migliorata, fino a far sì che oggi si possa effettuare una vasta gamma di misurazioni con elettrodi commercialmente disponibili (vedi Tabella), basati su sostanze allo stato solido e liquido con permeabilità selettiva a determinati ioni.

Un elettrodo a membrana, definito anche elettrodo ionoselettivo, è un elettrodo cilindrico in grado di misurare la concentrazione di una specifica specie chimica ionica o anche molecolare: questa peculiare sensibilità rappresenta la caratteristica saliente di questa classe di elettrodi.

Ione	Mezzo di scambio	Range operativo (M)	pH range	Resistenza elettrodi (MOhm)	Interferenti (sensibilità)
Br-	AgBr (cristalli)	5 10 ⁻⁶ fino 1	0 fino 14	<10	Cl ⁻ : 2.5 10 ⁻³ I ⁻ : 5 10 ³ CN ⁻ : 1.2 10 ⁴ OH ⁻ : 3 10 ⁻⁵ NH ₃ : 0.5
Ca ⁺⁺	liquido organico	1 10 ⁻⁵ fino 1	pCa<pH<10	<500	Ba ⁺⁺ , Sr ⁺⁺ ; Ni ⁺⁺ , Mg ⁺⁺ : 1 10 ⁻² Na ⁺ , K ⁺ : 1 10 ⁻³
Cl ⁻	AgCl (poli-cristallino)	5 10 ⁻⁵ fino 1	0<pHz<13 pCl	<10	Br ⁻ : 300 I ⁻ : 2 10 ⁶ CN ⁻ : 5 10 ⁶ OH ⁻ : 0.012 NH ₃ : 8 S ₂ -deve essere assente
Cu ⁺⁺	CuS-Ag ₂ S (miscela)	1 10 ⁻⁵ fino 1	0 fino 14	<1	Ag e Hg sono veleni e devono essere assenti: alti livelli di Cl ⁻ e Br ⁻ complessano soluzioni di Cu ²⁺ ; Fe ³⁺ : 10
F ⁻	LaF ₃ (cristallo singolo)	1 10 ⁻⁶ fino 1	0<pH<12 pF	<5	Br ⁻ , Cl ⁻ , I ⁻ , NO ₃ ⁻ , HCO ₃ ⁻ : 1 10 ⁻³ OH ⁻ : 0.1
I ⁻	AgI (cristallo)	5 10 ⁻⁸ fino 1	0 fino 14	<10	Cl ⁻ : 1 10 ⁻⁶ Br ⁻ : 2 10 ⁻⁴ CN ⁻ : 0.4 S ₂ O ₃ ²⁻ :1 10 ⁻⁵ S ₂ - ed agenti riducenti devono essere assenti
K ⁺	solido organico	1 10 ⁻⁷ fino 1	0 fino 14	<500	Cs ⁺ : 0.5 Rb ⁺ : 2 NH ₄ ⁺ : 0.01 Ag ⁺ : 0.002 Na ⁺ : 2 10 ⁻⁴
K ⁺	liquido organico	1 10 ⁻⁵ fino 1	2 fino 11	<100	Cs ⁺ : 20 Rb ⁺ : 10 NH ₄ ⁺ : 0.02 Na ⁺ : 0.012
Ag ⁺ o S ₂ ⁻	Ag ₂ S (cristallino)	1 10 ⁻⁷ fino 1	0 fino 14	<10	no interferenti sostanziali

Elettrodi a membrana iono-selettiva

Il potenziale risulta così pari a:

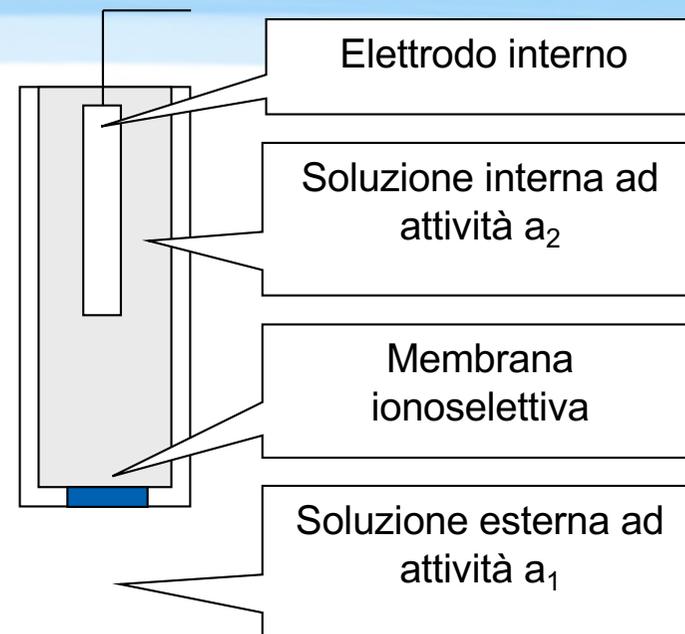
$$E = \frac{RT}{zF} \ln \left(\frac{a_1}{a_2} \right)$$

in cui a_1 e a_2 sono le attività dei due elettroliti e z è la valenza dello ione.

Visto che una delle due soluzioni è presa come riferimento, il potenziale è esprimibile come:

$$E = E^0 + \frac{RT}{zF} \ln(a_{ione}) = E^0 - 2,3 \frac{RT}{zF} p(ione)$$

in cui E^0 comprende i potenziali di semicella e l'attività della soluzione di riferimento.



Lo schema di principio è del tutto analogo a quello degli elettrodi a vetro.

Elettrodi iono-selettivi in Medicina

Mentre l'elettrodo per la misura del pH è usato come parte integrante dei sistemi di analisi dei gas disciolti nel sangue, altrettanto non si può dire degli elettrodi ionoselettivi.

Utilizzo molto ridotto, se confrontato alla notevole mole di letteratura scientifica (la rilevazione automatica di Na⁺, K⁺, H⁺ e Cl⁻ risale al 1967).

Fattori principali:

1. innanzitutto, molti dei primi elettrodi comparsi sul mercato non fornivano le prestazioni reclamizzate (inaffidabilità).
2. sistemi di misura automatici o semiautomatici basati su fotometri ad emissione, generano misure accurate di elettroliti per il monitoraggio del paziente.

Prestazioni di un fotometro > di un sistema ad elettrodi multicanale.

Bassi costi per gli elettrodi, ma i costi di tutto il sistema di trasporto del fluido, di visualizzazione del risultato e di manutenzione riducono questo vantaggio.



Nonostante ciò, l'interesse verso l'applicazione degli elettrodi ionoselettivi in clinica medica non si è spento.

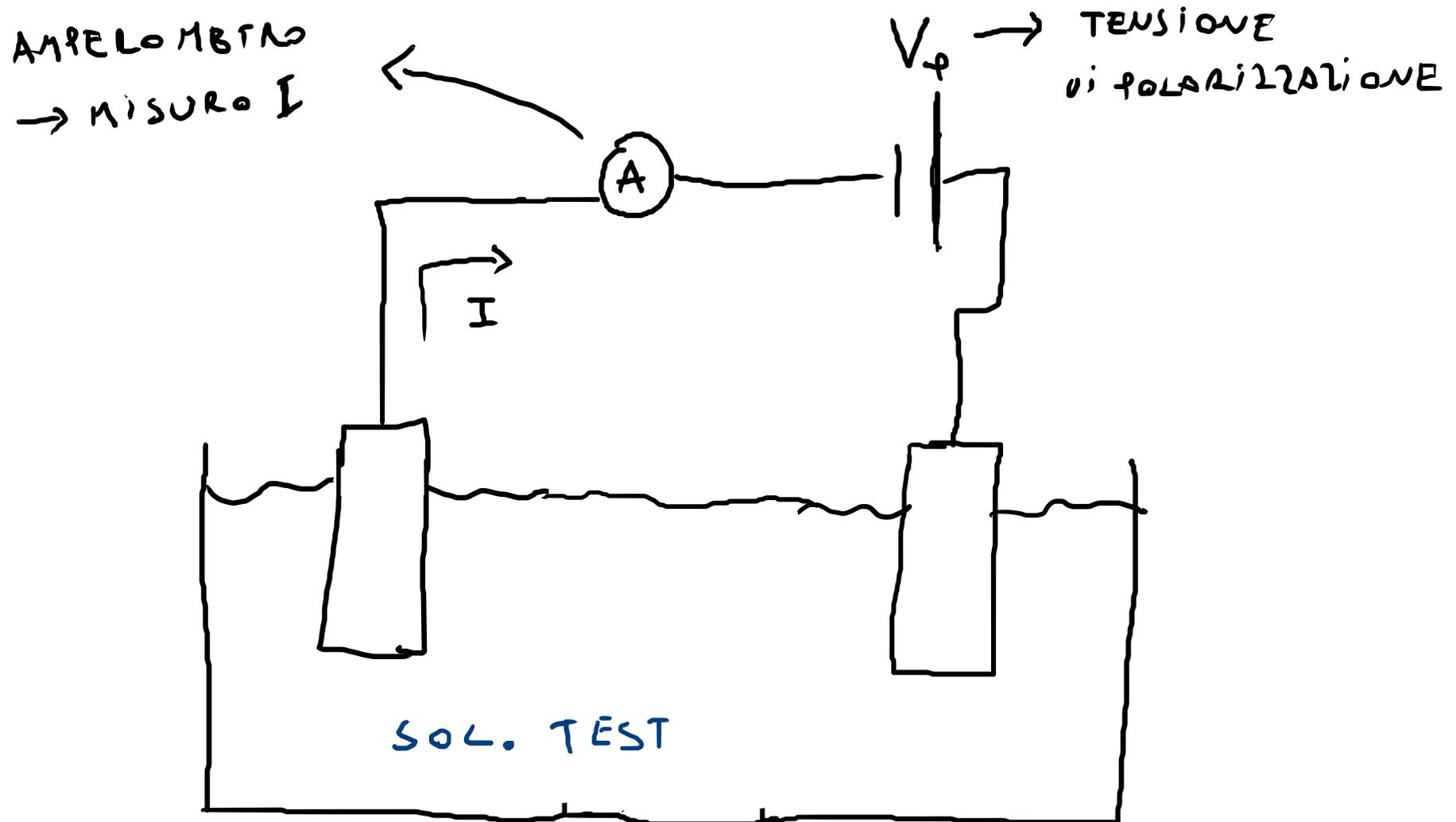
I motivi più importanti sono i seguenti:

- gli elettrodi danno una indicazione dell'attività, più che della concentrazione;
- possono essere usati per analisi molto rapide su campioni ridotti di sangue;
- ulteriori sviluppi potrebbero rendere possibile il rilevamento di specie non ancora "visibili" ad altri strumenti.

Misure amperometriche

- L'amperometria è una particolare misura effettuata a **potenziale imposto**, nella quale la **corrente misurata** è proporzionale alla **concentrazione dell'analita**.
- Si misura la corrente che si ottiene applicando all'elettrodo di lavoro un opportuno potenziale. La corrente di **diffusione** risulta direttamente proporzionale alla concentrazione della sostanza di interesse
- **Dalla lettura del valore di corrente è possibile risalire alla stima della concentrazione della sostanza di interesse.**

Misure amperometriche: principio di funzionamento



Corrente di diffusione dipenderà dalla concentrazione dell'analita nella soluzione di test

Misura dell'ossigeno

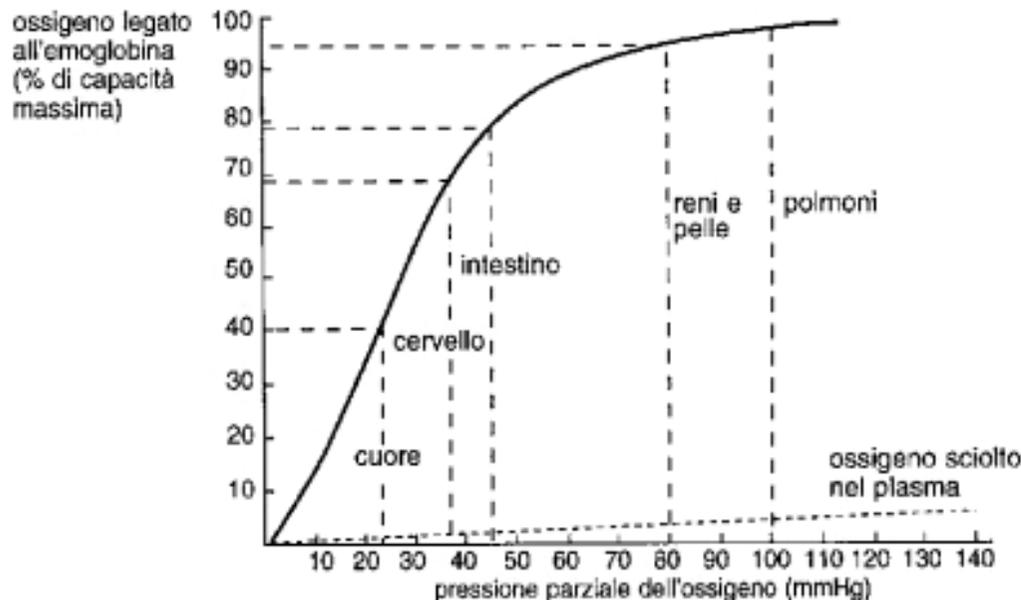
- Misura di gas disciolti nel sangue (O_2 , CO_2)
- Ruolo essenziale nella funzionalità cellulare.
- Necessità di strumenti semplici ed efficienti in grado di misurare l'ossigeno presente nel sangue e nei tessuti.
- Il contenuto di ossigeno (o la concentrazione) è il volume di ossigeno presente in un certo volume di soluzione e viene espresso comunemente in ml per 100 ml oppure ml per litro.
- In una soluzione in equilibrio con una miscela di gas contenente O_2 , la concentrazione di O_2 in soluzione dipenderà, in generale, dalla **pressione parziale** dell'ossigeno (PO_2).
- La concentrazione di ossigeno espressa in termini della sua pressione parziale PO_2 (quindi in mmHg) viene chiamata **tensione di ossigeno**.

La pressione totale esercitata da una miscela ideale di gas ideali è uguale alla somma delle **pressioni parziali** che sarebbero esercitate dai gas se fossero presenti da soli in un eguale volume.

La **pressione parziale** di un componente di una miscela di gas è la pressione che questo avrebbe qualora occupasse, da solo, il volume a disposizione dell'intera miscela.

Misura dell'ossigeno

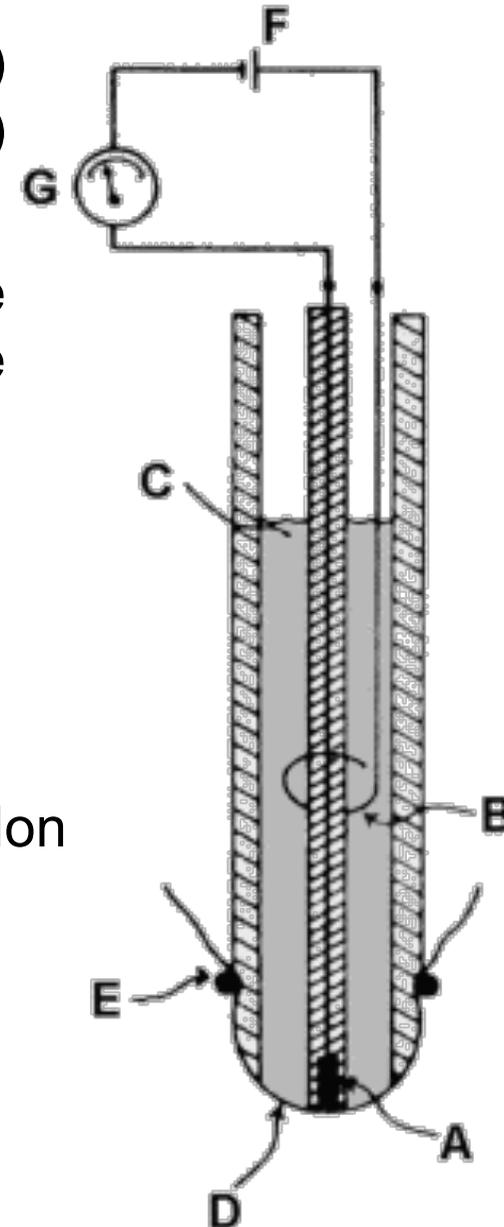
- Con ossigeno semplicemente in soluzione e senza legami chimici con i costituenti della soluzione:
 - la tensione di ossigeno è direttamente proporzionale alla concentrazione (legge di Henry).
- Se l'ossigeno forma dei legami reversibili (come avviene nel sangue con l'emoglobina), la relazione della concentrazione con la pressione parziale non è lineare.
- La saturazione di ossigeno viene definita come: $(O_2 \text{ nel sangue legato all'emoglobina} / \text{Max. } O_2 \text{ contenibile dal sangue}) \times 100$.



In particolare, quando la PO_2 è elevata, l'emoglobina presente nel sangue viene saturata, quindi la concentrazione di O_2 (legato) nel sangue è massima.

Misura amperometrica – elettrodo Clark per l'ossigeno

- Elettrodo di un metallo nobile (in genere platino) polarizzato negativamente (tipico: -700 mV) rispetto ad un elettrodo di riferimento.
- Analisi delle caratteristiche corrente-tensione derivanti dall'analisi di soluzioni con diverse concentrazioni di ossigeno disciolto.
 - (A) Elettrodo Pt
 - (B) Elettrodo di riferimento Ag/AgCl
 - (C) Soluzione elettrolitica KCl
 - (D) Membrana permeabile a O_2 realizzata in Teflon
 - (E) Punti di sostegno della membrana
 - (F) Tensione applicata
 - (G) galvanometro (misuratore di corrente)



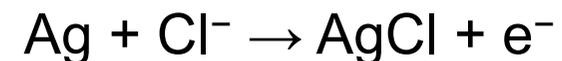
Si impone una tensione e si misura la corrispondente corrente che dipenderà dalla pressione parziale di O₂

La corrente deriva dal processo chimico che si sviluppa tra Catodo e Anodo:

Reazione catodica (corrente entrante, rid)



Reazione anodica (corrente uscente, ox)



Quindi per ogni molecola di ossigeno ridotta, vengono forniti quattro elettroni

L'andamento della curva I-V può essere spiegato nel modo seguente:

- Per piccole tensioni applicate, la corrente è principalmente **limitata dal trasferimento elettronico** dovuto alle reazioni redox.
- Per tensioni maggiori, il meccanismo è **limitato dalla diffusione**, l'attività dell'ossigeno sulla superficie dell'elettrodo diventa nulla e la corrente misurata dipende dalla concentrazione di ossigeno nel bulk (che è la quantità che intendiamo misurare)

Elettrodo di ossigeno

- Le correnti tendono a crescere con la tensione, fino a raggiungere una zona di plateau in cui il loro valore è indipendente dalla variazione di tensione (componente diffusiva, **sovratensione per diffusione**).
- In questa regione del grafico, **il valore della corrente è proporzionale al contenuto di ossigeno**.

