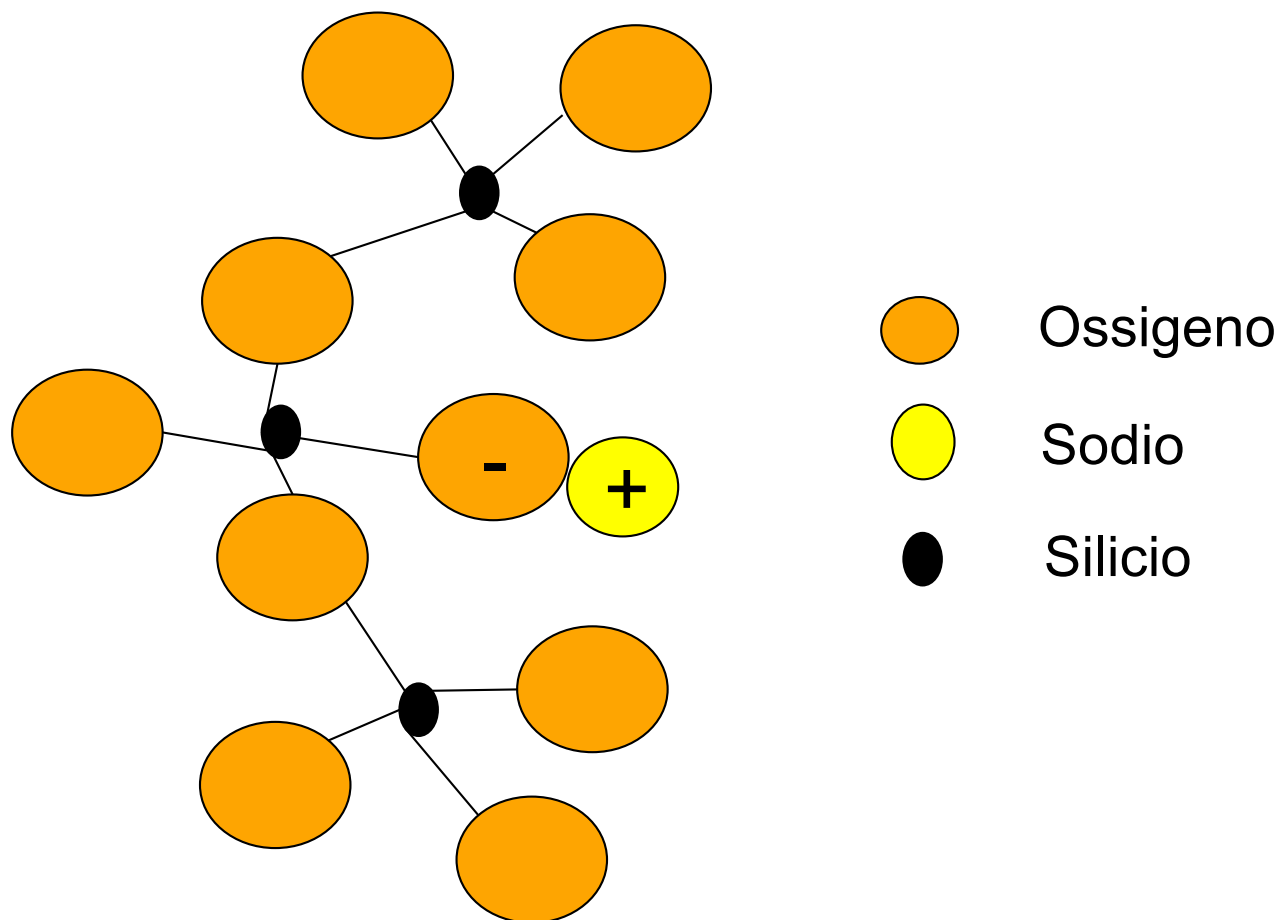


Elettrodi a vetro

- 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** o di **altri ioni** presenti negli elettroliti.
- 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:
 - Nei vetri, come nei liquidi, non è presente a livello atomico un ordine su larga scala, mentre su scala microscopica, esiste un certo grado di ordine. 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.

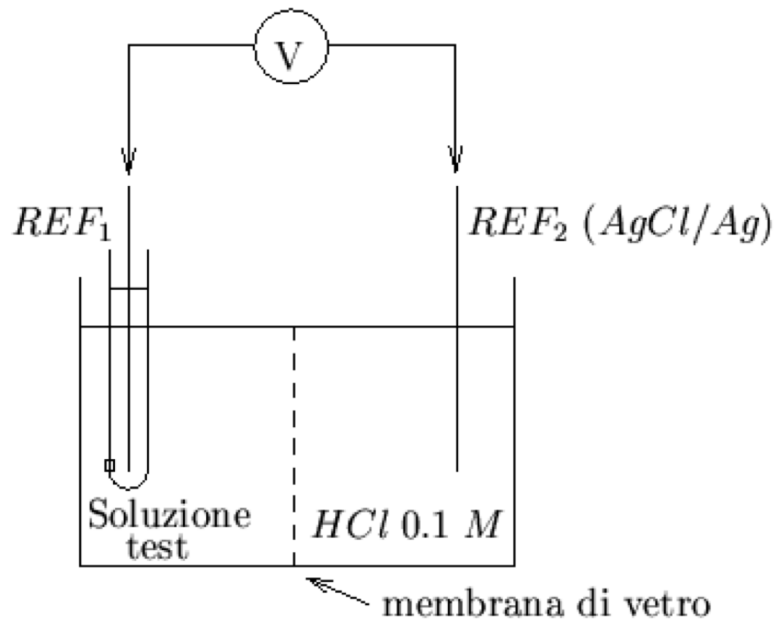
La debolezza di questo legame metallico e l'esistenza di siti interstiziali forniscono agli atomi metallici un certo grado di mobilità.

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 conducibilita' 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 e' data dalla somma delle ddp alle 4 interfacce: (1) elettrodo 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 e'** 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 $K_{H^+/Na^+} \cdot a_{Na^+}$

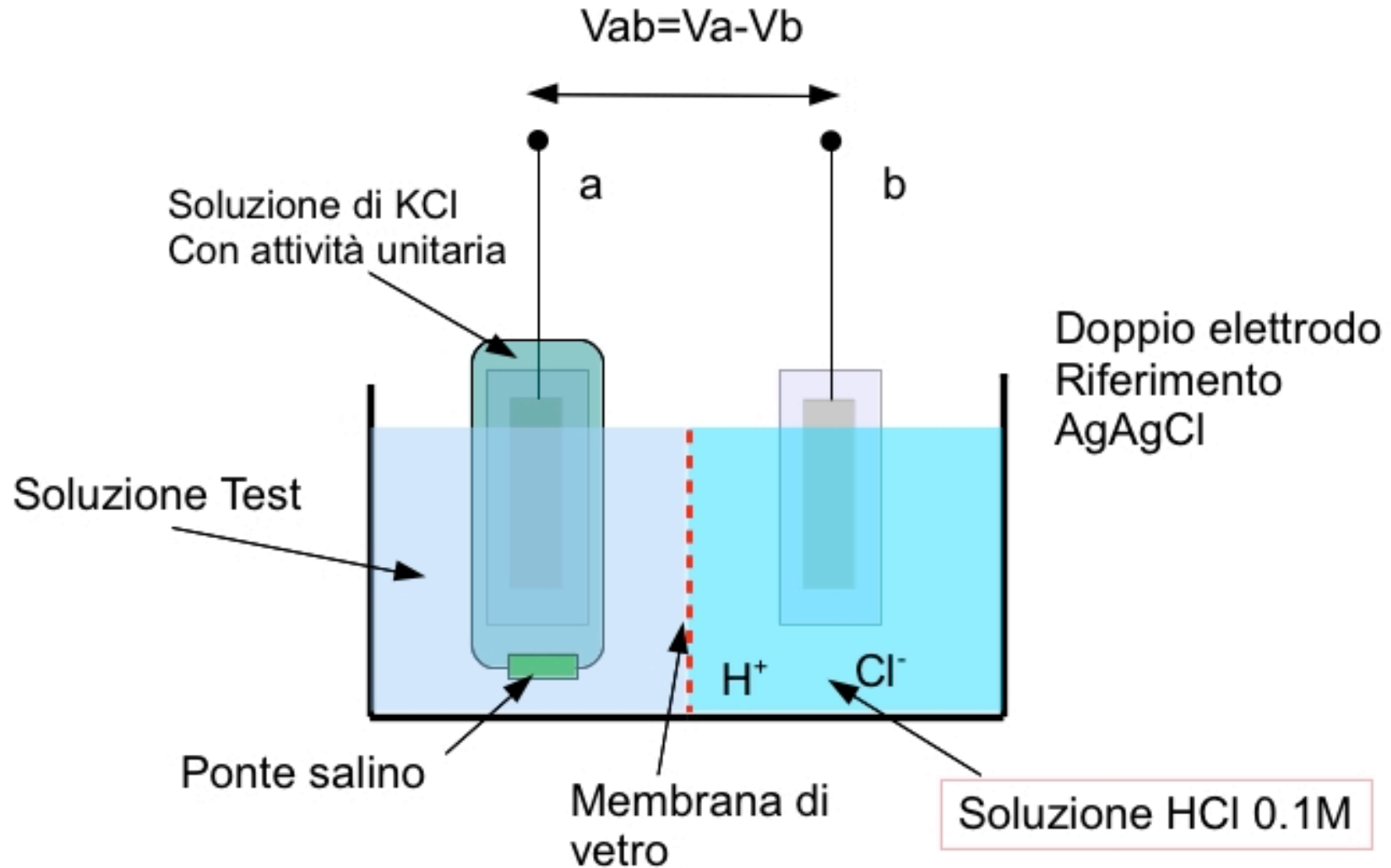
tanto più la caratteristica dell'elettrodo sarà vicina alla relazione lineare tra E e il pH.

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

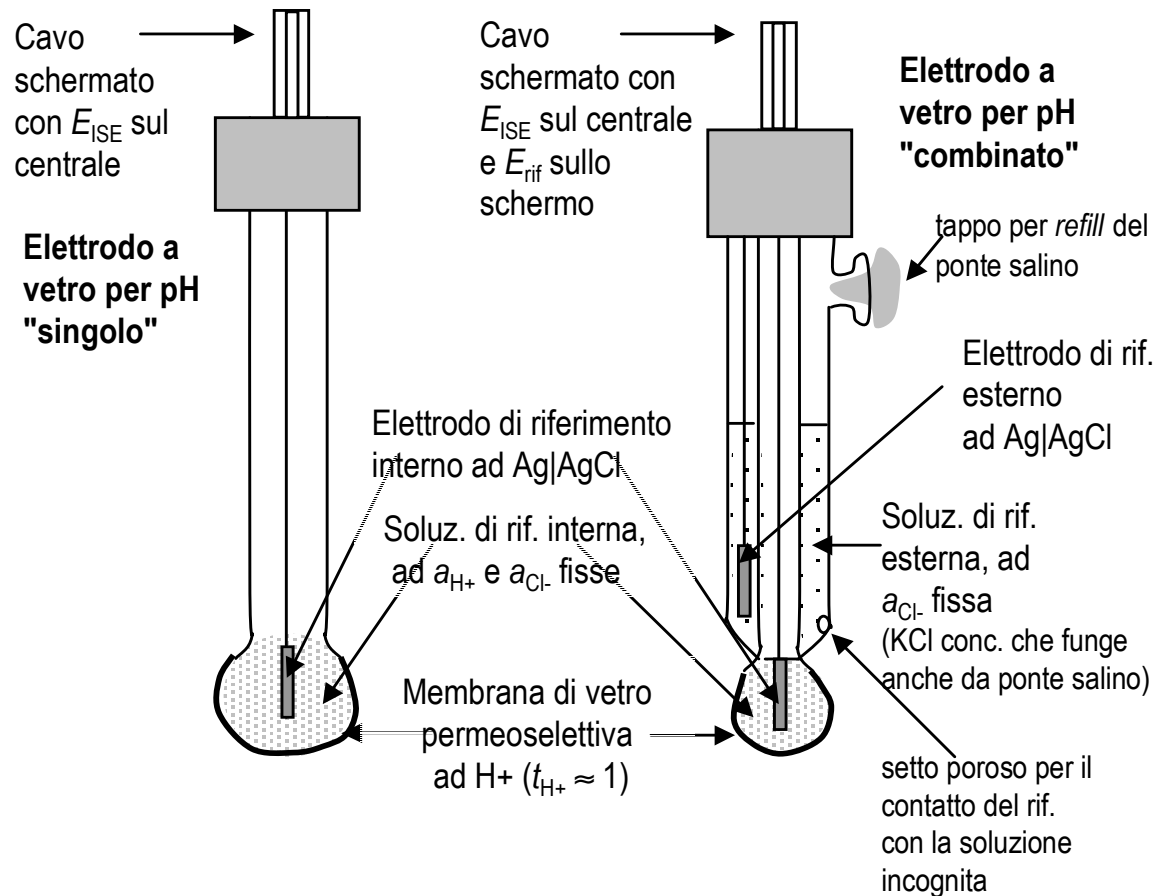


Esempi di elettrodi a vetro reali

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, una seconda camicia 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:

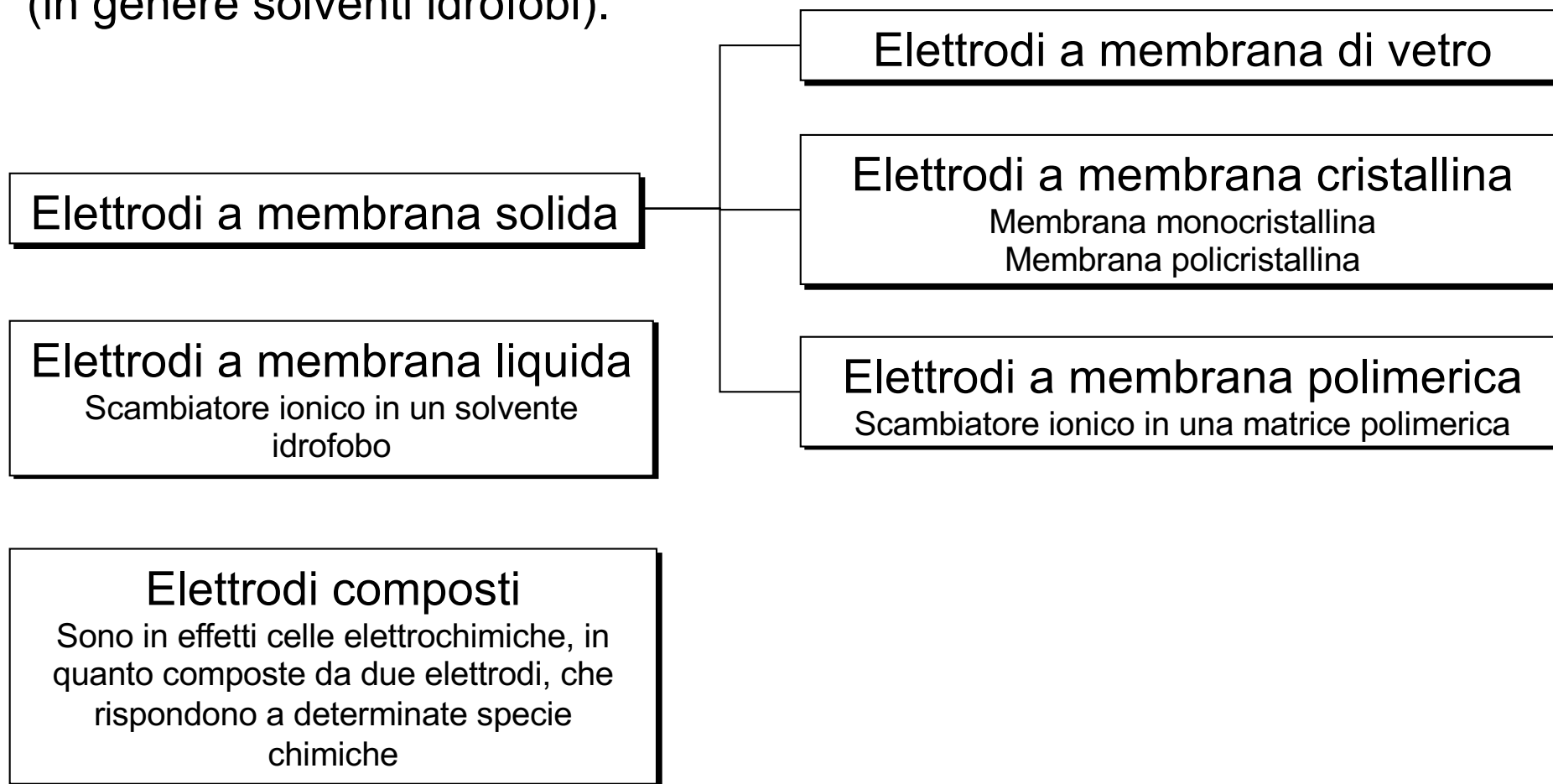
$$E = E^0 + \frac{RT}{F} \ln(a_{K^+} + 10a_{Na^+})$$

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).



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

Schematicamente gli elettrodi a membrana sono costituiti da un involucro che racchiude un sensore metallico immerso in una soluzione di riferimento a concentrazione nota e costante.

La parte sensibile è costituita da una piccola membrana sita sul fondo dell'elettrodo tra le cui interfacce interna ed esterna si stabilisce una differenza di potenziale dovuta alla differenza di concentrazione esistente tra la soluzione di riferimento e quella contenente l'analita e nella quale è immerso l'elettrodo a membrana. Lo schema di principio è del tutto analogo a quello degli elettrodi a vetro.

Per quanto riguarda gli elettrodi a membrana, il potenziale che si stabilisce, in condizioni di equilibrio, a cavallo della membrana iono-selettiva che separa due elettroliti (contenenti lo stesso ione, ma in concentrazioni differenti) deve essere tale da bilanciare il flusso di ioni dalla zona a maggiore concentrazione (a_1) verso quella più diluita (a_2).

Il potenziale risulta così pari a:

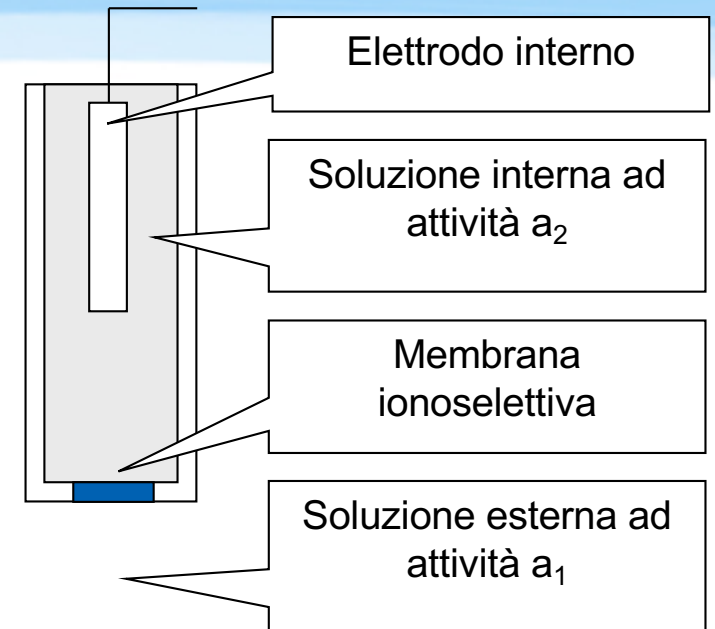
$$E = \frac{RT}{zF} \ln \left(\frac{a_1}{a_2} \right)$$

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.



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.

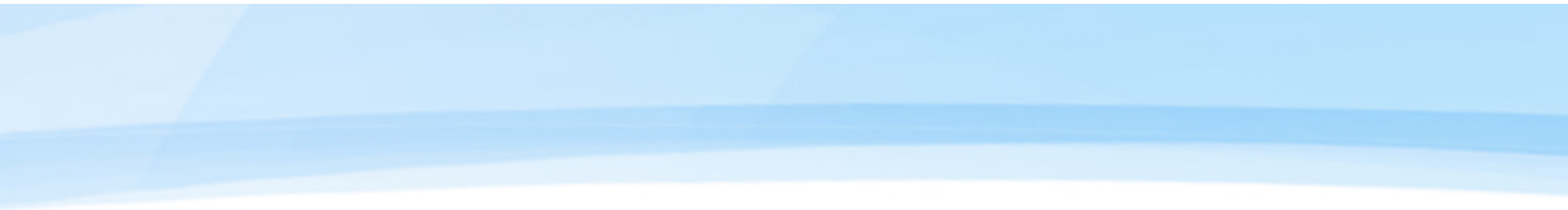
Utilizzo molto ridotto, se confrontato alla notevole mole di letteratura scientifica (la rilevazione automatica di Na⁺, K⁺, H⁺ e Cl⁻ risale al 1967).

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 di gas disciolti

- Misura dell'ossigeno
 - Elettrodo di ossigeno
 - L'elettrodo Clark
- Misura di anidride carbonica
- Misurazione transcutanea dei gas nel sangue
 - Monitoraggio transcutaneo di anidride carbonica
 - Monitoraggio transcutaneo di ossigeno

Misura dell'ossigeno

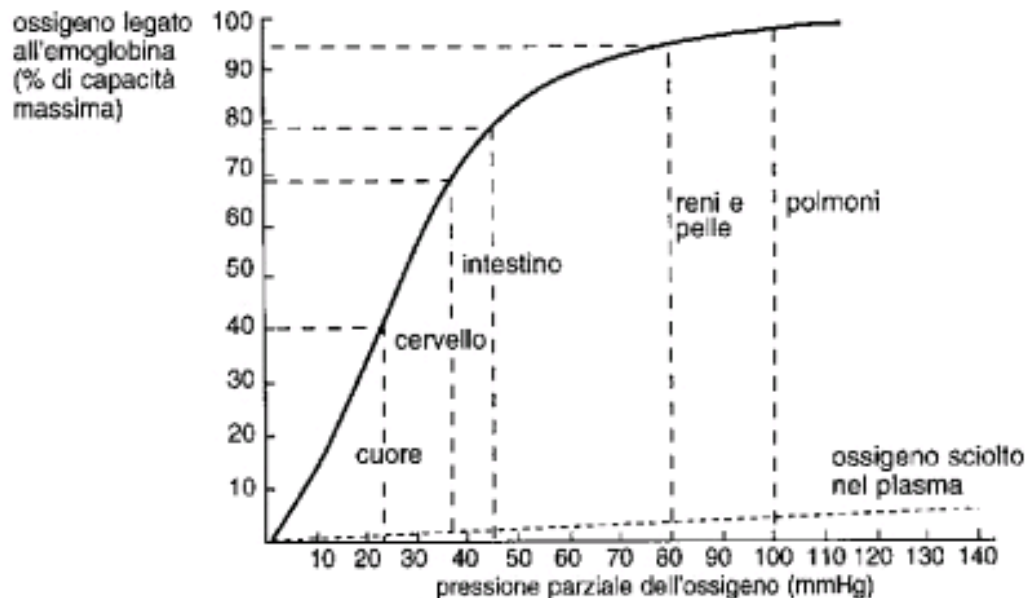
- Ruolo essenziale nella funzionalità cellulare.
- Necessità di strumenti semplici ed efficienti in grado di misurare l'ossigeno presente nel sangue e nei tessuti.
- Il contenuto di ossigeno (o la concentrazione) è il volume di ossigeno (a 0° C e 760 mmHg) presente in un certo volume di soluzione e viene 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: $(O_2 \text{ nel sangue legato all'emoglobina} / \text{Max. } O_2 \text{ contenibile dal sangue}) \times 100$.



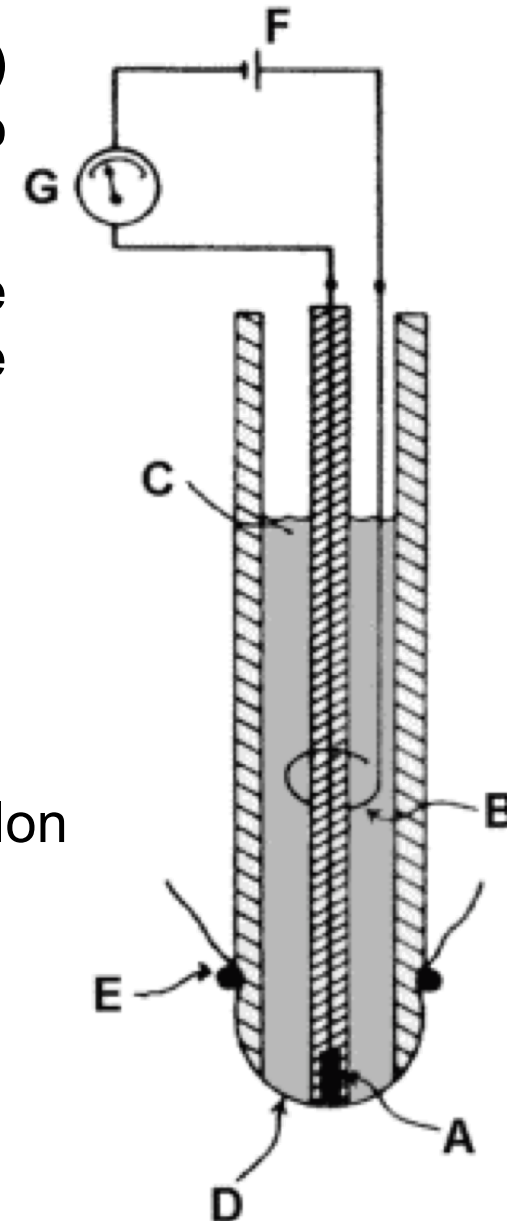
In particolare, quando la PO_2 è elevata, l'emoglobina presente nel sangue viene saturata, quindi la concentrazione di O_2 (legato) nel sangue è massima.

Misure amperometriche

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

Misura amperometrica – elettrodo Clark per l'ossigeno

- Elettrodo di un metallo nobile (in genere platino) polarizzato negativamente 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 O₂ 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:



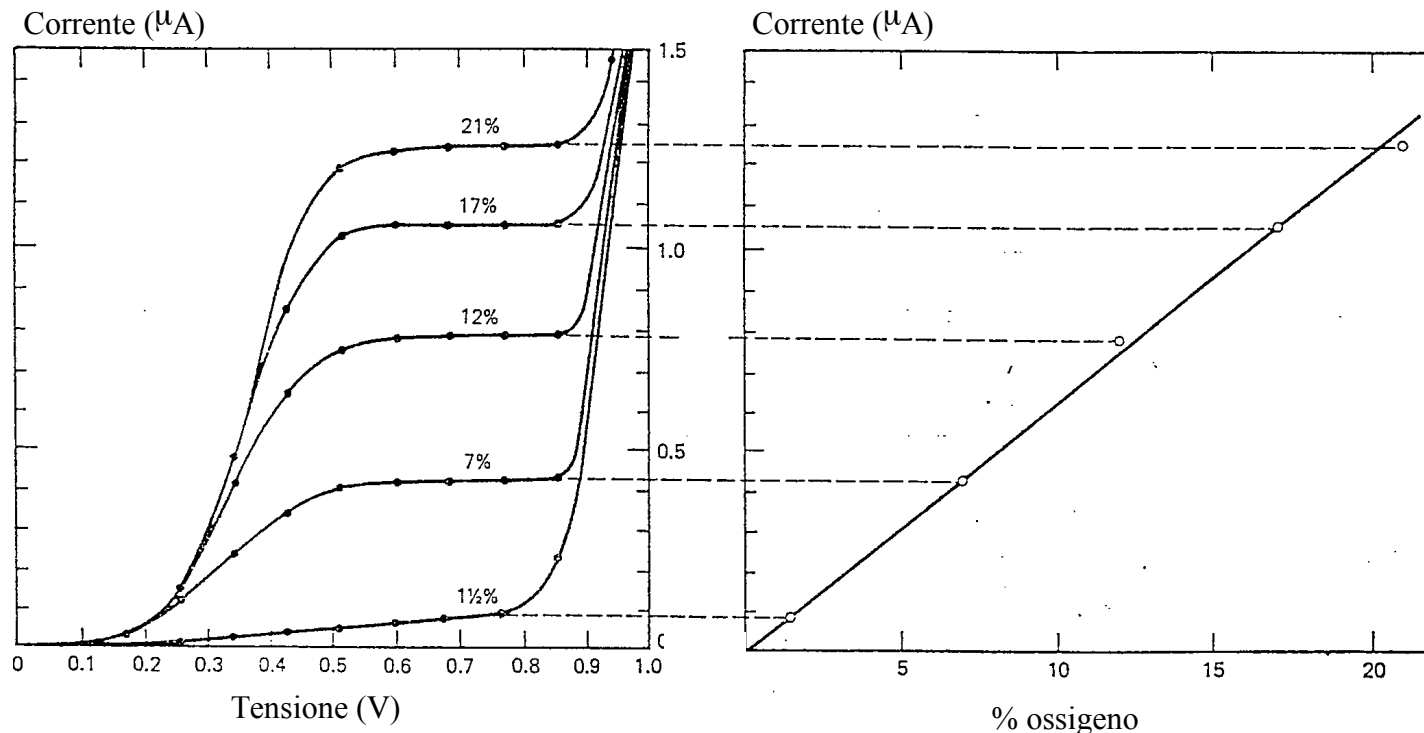
Quindi per ogni molecola di ossigeno ridotta, vengono forniti quattro elettroni

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**.



L'elettrodo Clark

- Elettrodi di ossigeno dotati di stabilità e ampiamente utilizzati in ambito clinico (L. C. Clark teorizzò questo tipo di elettrodo nel 1956).
- Soluzione elettrolitica contenuta all'interno dell'elettrodo per trasportare l'ossigeno da una membrana O_2 -permeabile al catodo metallico.
- Evitano i problemi di avvelenamento dell'elettrodo dovuti alla deposizione di proteine sul catodo.
- Nessun contatto elettrico con la soluzione in esame e l'elettrodo di riferimento è contenuto all'interno del dispositivo stesso.
- Possibilità di misurare la tensione di ossigeno anche in mezzi non conduttivi (per esempio, mix di gas).

Misura di anidride carbonica

Assieme alla PO_2 e al pH, la misurazione dell'anidride carbonica presente nel sangue, costituisce uno strumento **indispensabile** nella diagnosi dei **disturbi degli equilibri acido-base**.

Un aumento della PCO_2 nel sangue è un segno di una imminente crisi respiratoria.

Le tecniche più rilevanti per la misurazione dell'anidride carbonica nel sangue sono tre:

1. il metodo della concentrazione di CO_2 -pH;
2. il tonometro di Astrup;
3. l'elettrodo di CO_2 ;

L'elettrodo di CO_2 fornisce i risultati migliori in termini di distribuzione dell'errore, di convenienza e di tempi di misura.

Principio di funzionamento:

l'anidride carbonica presente nella soluzione da testare si porta all'equilibrio con una soluzione acquosa. Qui la CO_2 reagisce con l'acqua formando acido carbonico, quindi è sufficiente misurare il pH di questa soluzione per quantificare la PCO_2 .

Misure di anidride carbonica

La concentrazione di acido carbonico è proporzionale alla tensione di CO₂:

$$a_{\text{CO}_2} = SP_{\text{CO}_2}$$

S: solubilità CO₂ in acqua



$$K_a = \frac{a_{\text{H}^+} a_{\text{HCO}_3^-}}{a_{\text{CO}_2}}$$

$$K'_a = \frac{a_{\text{H}^+}^2}{SP_{\text{CO}_2}}$$

$$\text{pH} = \text{const.} - 0.5 \log P_{\text{CO}_2}$$

Per modificare il comportamento del sensore: membrane non molto permeabili alla CO₂, come il Teflon, forniscono maggiore accuratezza e stabilità a lungo termine rispetto a membrane più permeabili (Silastic) che, d'altro canto, hanno una risposta più rapida.