

# Sensori chimici

---

In campo biomedico, i sensori elettrochimici potenziometrici trovano applicazioni in diversi ambiti. Il primo e più grande campo applicativo è quello delle **misure di concentrazioni ioniche in soluzione:**

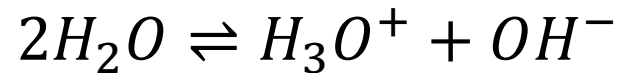
- Misure di pH tramite elettrodi a vetro
- Misure di Sodio e Potassio
- Elettrodi Ionoselettivi a membrana (misura del potassio nel sangue)
- Elettrodi per la rilevazione di CO<sub>2</sub>

# pH – concetti base

---

Il termine pH è la contrazione di “**p**otential of **H**ydrogen” e misura il grado di acidità di una soluzione.

- $\text{pH} = -\log_{10}[\text{H}_3\text{O}^+]$  (a notazione logaritmica è utilizzata per esprimere numeri molto grandi/piccoli in maniera semplice e veloce).
- L’acqua, anche quella pura, presenta una certa conducibilità. Questo fenomeno è dovuto alla presenza di specie cariche derivanti dal processo di **autoionizzazione dell’acqua**:



La costante di equilibrio sarà dunque data da:

$$K_{eq} = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{OH}^-]}{[\text{H}_2\text{O}]^2}$$

# pH – concetti base

---

Considerando costante la concentrazione di  $H_2O$  si può scrivere la **costante di autoionizzazione** dell'acqua come:

$$K_W = K_{eq} \cdot [H_2O]^2 = [H_3O^+][OH^-] = 10^{-14} M^2$$

$$[H_3O^+] = [OH^-] = 10^{-7} M$$

In termini di pH avremo dunque:

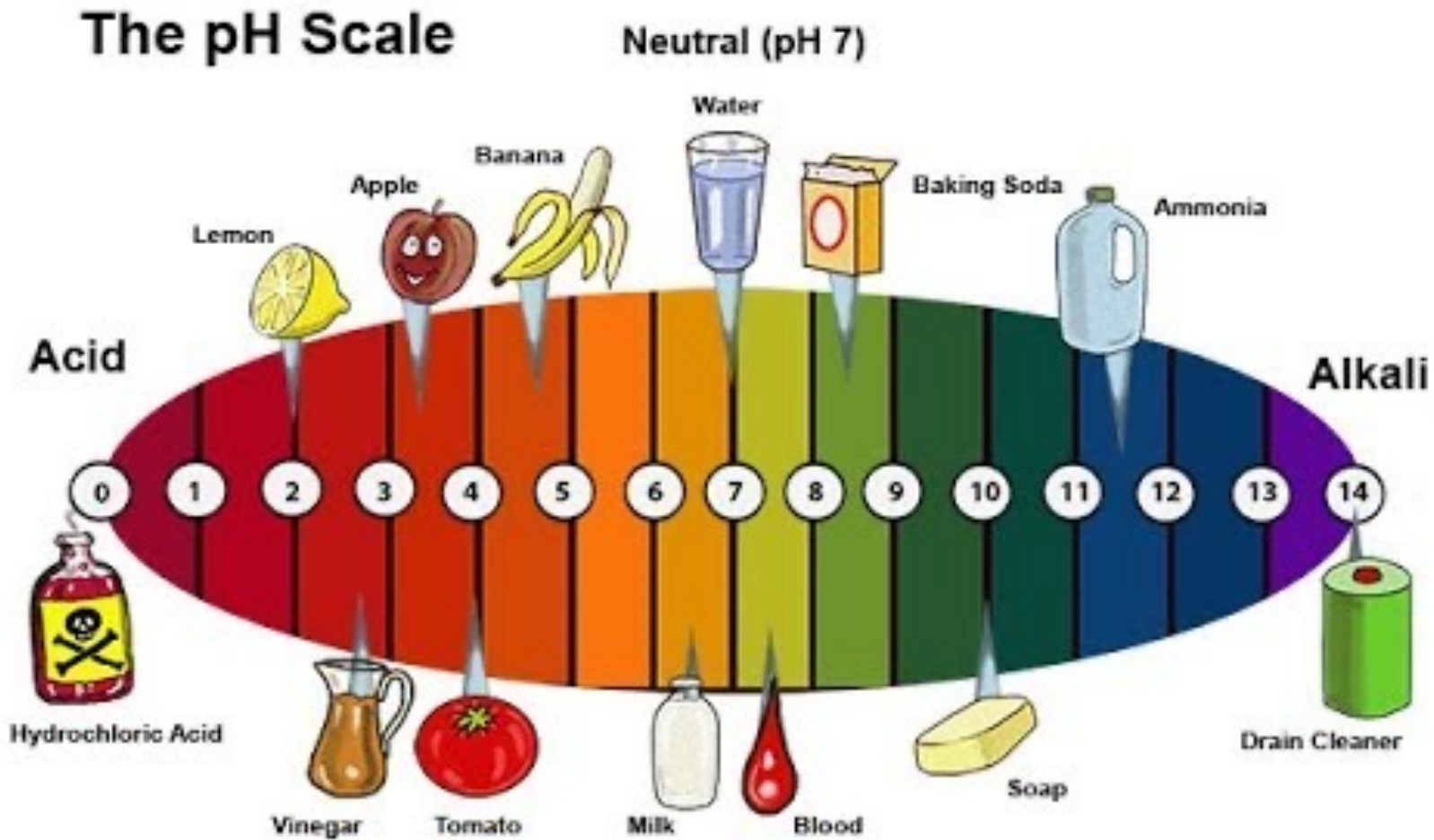
$$pK_W = -\log_{10} K_W = 14$$

$$pH = pOH = -\log_{10}[H_3O^+] = -\log_{10}[OH^-] = 7$$

Acqua pura: pH=7  
pH < 7: acido  
pH > 7: base

Aggiungendo un acido,  $[H_3O^+]$  aumenta mentre  $[OH^-]$  diminuisce mantenendo costante  $K_W$ .

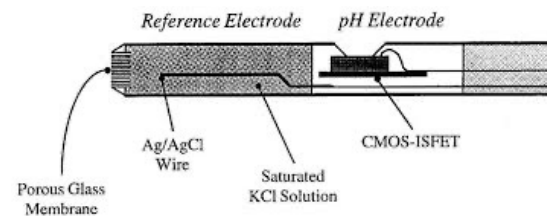
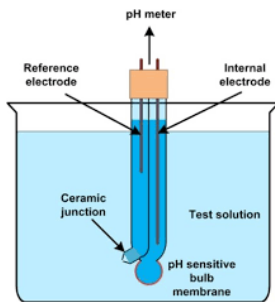
# pH – concetti base



# Misure di pH – un po' di storia

- pH-meter:

- Concetto introdotto da Cremer nel 1906.
- Nel 1936, primo pH-meter commerciale (Arnold Beckman) basato sull'elettrodo a vetro.
- Primi anni 70': Introduzione dell'ISFET (Ion Sensitive FET) come alternativa all'elettrodo a vetro per le misure di pH .
- Nel 1973, primo pH-meter digitale portatile (Jenco Electronics).



1936

1970

1973

2000

# Misure di pH

---

Il pH è un parametro molto importante in ambito biomedico. Una buona parte dell'energia spesa dal nostro organismo è infatti utilizzata per **mantenere il suo valore nei fluidi corporei entro limiti ben precisi.**

- pH sanguigno: tra 7.35 e 7.45
- pH liquido extracellulare: 7.4
- pH gastrico: 1 - 2
- pH urine: 4.6 - 8

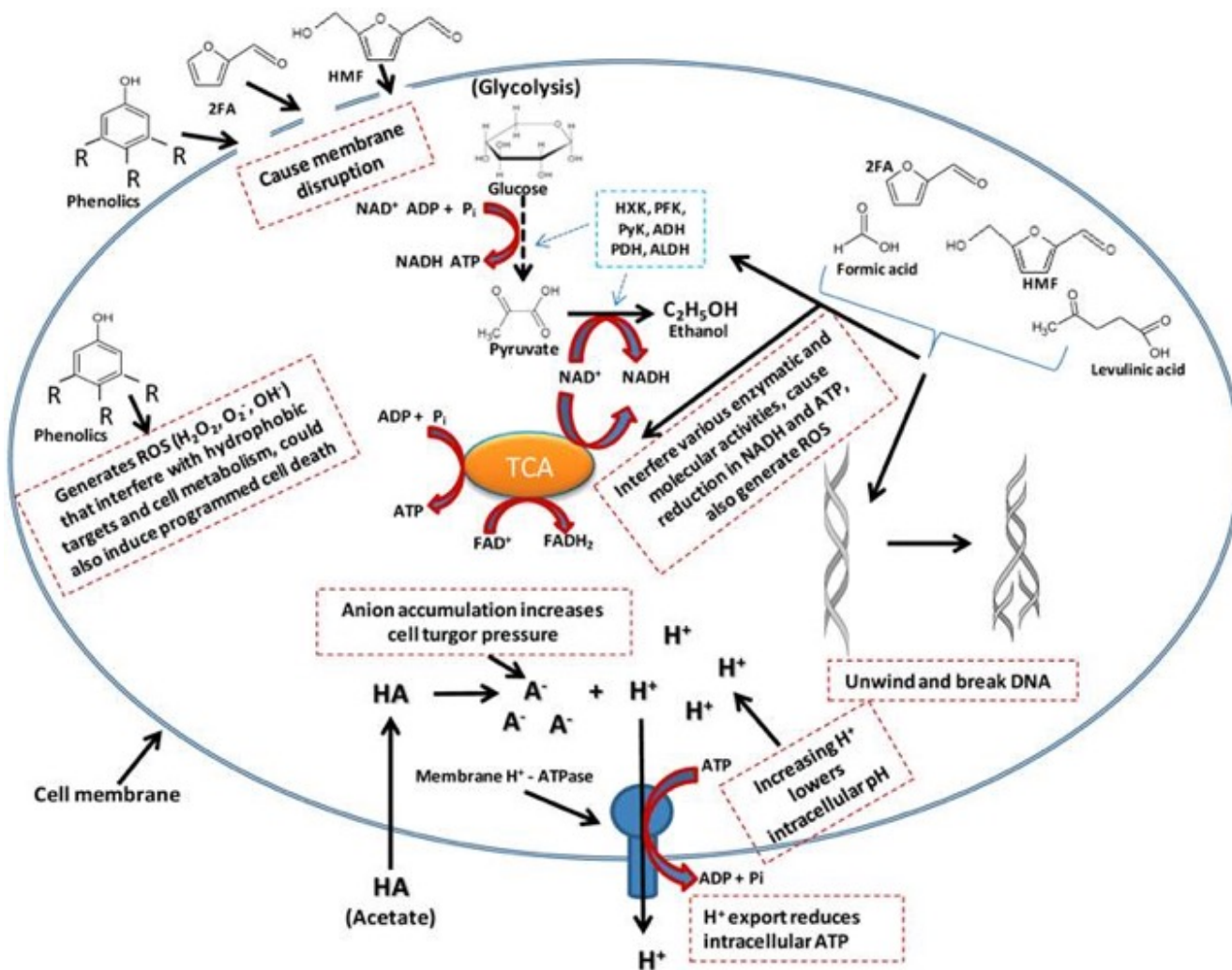
I meccanismi principali con cui viene regolato il pH sanguigno sono di tre tipi:

**Meccanismi chimici** grazie alla presenza di sistemi tampone → azione immediata

**Modulazione dell'attività respiratoria** → pochi minuti

**Filtraggio ematico** a livello renale → ore/giorni

# pH e metabolismo cellulare



Neuroingegneria

Farmacologia

Ingegneria Tissutale

Controllo vitalità cellulare

Realizzazione di nuovi biosensori

# pH e metabolismo cellulare

---

Diversi parametri possono essere utilizzati per misurare l'attività metabolica cellulare, in particolare il **consumo di glucosio**, la **produzione di lattato**, il **consumo di ossigeno** dovuto alla **respirazione cellulare** e **variazioni del pH extracellulare**. Tra questi parametri, il monitoraggio del pH del mezzo extracellulare rappresenta un metodo conveniente e relativamente pratico.

Neuroingegneria

Farmacologia

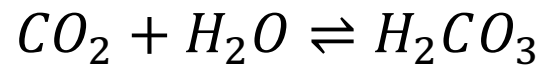
Ingegneria Tissutale

Controllo vitalità cellulare

Realizzazione di  
nuovi biosensori

# pH e metabolismo cellulare

In particolare, quando consideriamo l'**acidificazione indotta dall'attività metabolica cellulare**, è possibile identificare due diversi meccanismi: quello **aerobico** e quello **anaerobico**. Nel caso aerobico, il glucosio viene convertito in  $\text{CO}_2$  (con la produzione di energia) in un processo chiamato **respirazione cellulare**. Nel caso **anaerobico** invece, il glucosio viene convertito in lattato (con la produzione di energia) attraverso la via del piruvato (che viene convertito in lattato dalla lattato deidrogenasi).



Acido carbonico (acido debole)

Neuroingegneria

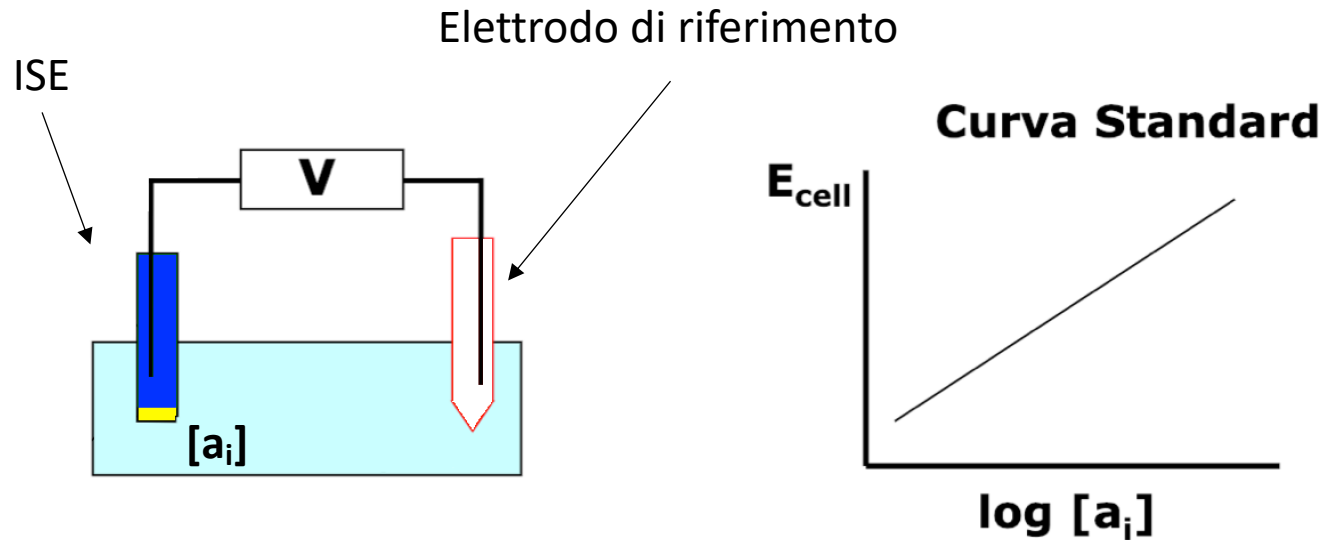
Farmacologia

Ingegneria Tissutale

Controllo vitalità cellulare

Realizzazione di nuovi biosensori

# Elettrodi Ionoselettivi – ISEs (Ion Selective Electrodes)



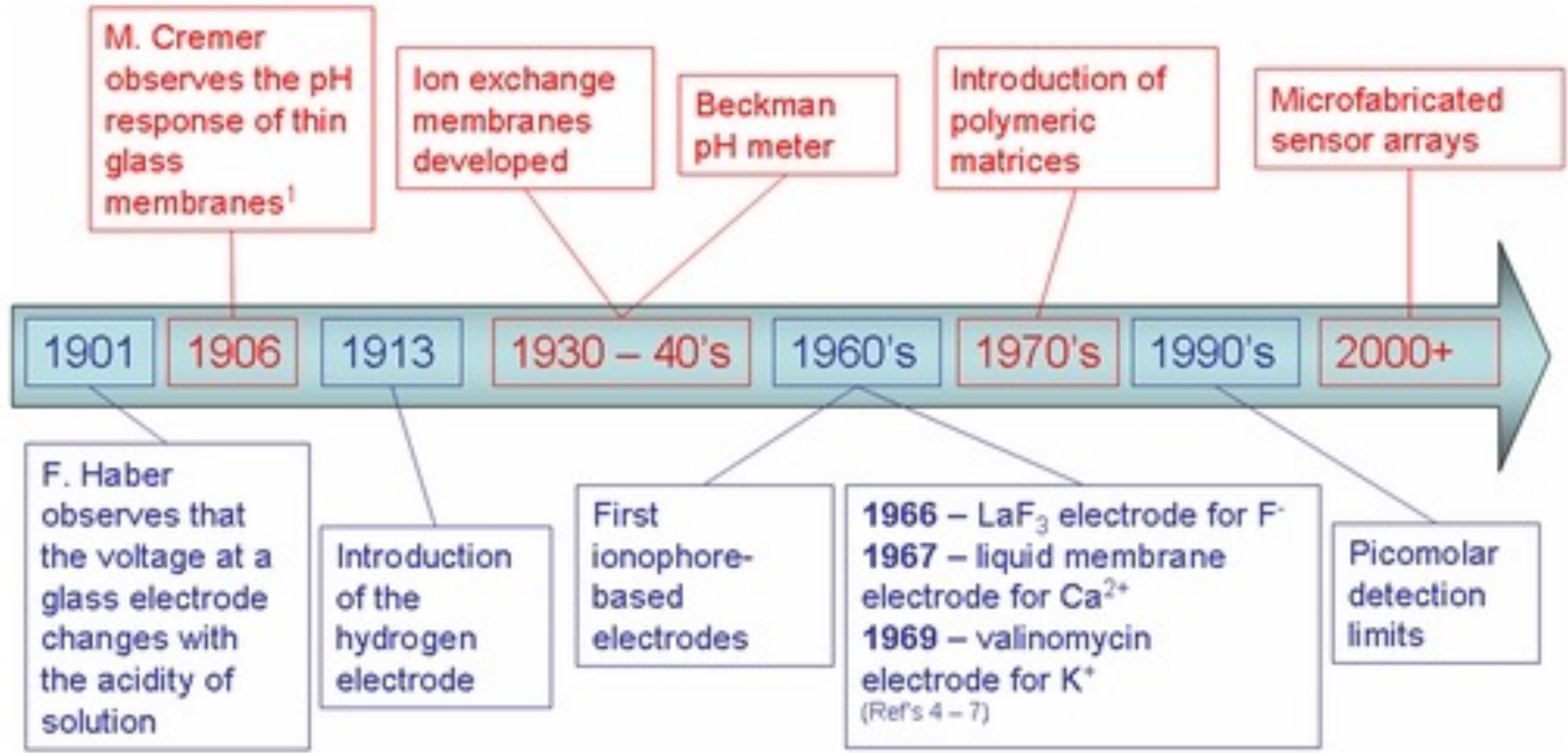
$$E_{cell} = E' + 2.3 \frac{RT}{nF} \log(a_i)$$

Un elettrodo ione selettivo è un sensore chimico che converte l'attività di uno ione in un potenziale elettrico (variazione rispetto ad un riferimento). In sostanza: è una cella elettrochimica.

## Principali tipi di membrane:

- Membrane basate su particolari vetri
- Membrane cristalline o policristalline (come quelle basate sul Fluoruro di lantanio)
- Membrane basate su resine a scambio ionico (sia cationiche che anioniche)
- Elettrodi enzimatici

# Elettrodi Ionoselettivi – ISEs (Ion Selective Electrodes)



# L'elettrodo a vetro

---

Il più classico esempio di elettrodo ionoselettivo è quello di pH. **Approccio potenziometrico.**

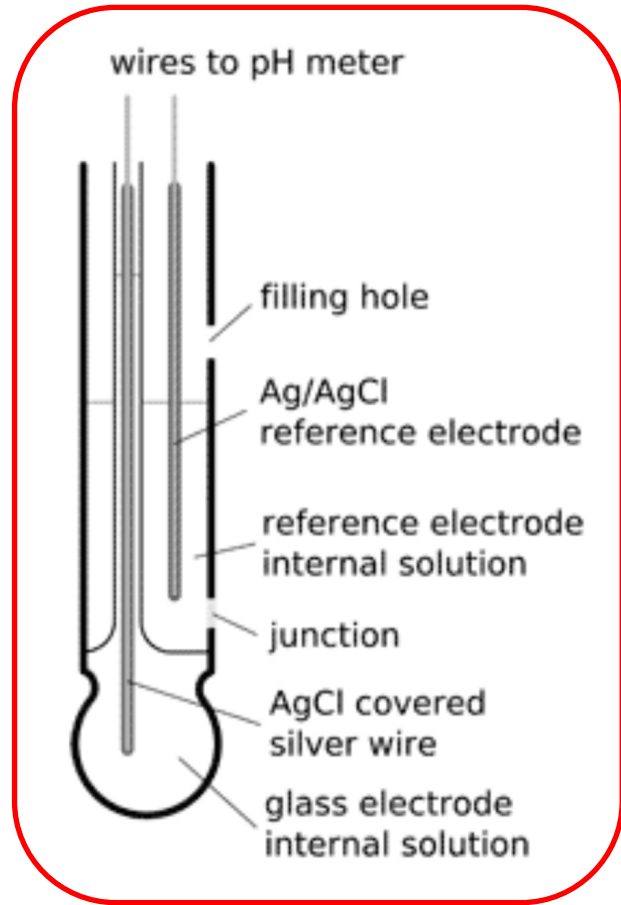
I moderni elettrodi a vetro sono, di fatto dispositivi, non singoli elettrodi (prendono infatti il nome di elettrodi a vetro **COMBINATI**).

Misura dell'**attività** dello ione idronio (o idrossonio) ( $[H_3O^+]$ ).

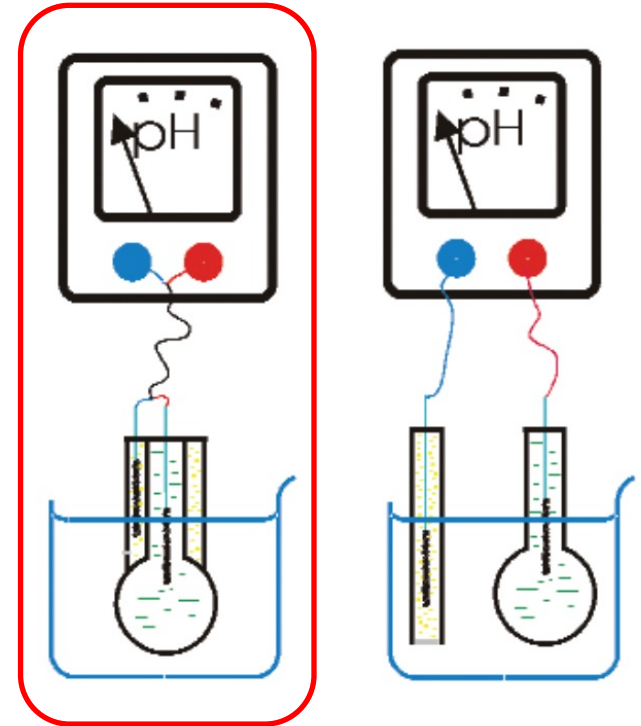
La parte sensibile è costituita dalla **parte finale del dispositivo**, cioè un bulbo di vetro dalle pareti sottilissime (spessore circa 0.1 mm) sigillato al tubo di vetro (spesso). Il tutto è riempito da una **soluzione di KCl** (alla concentrazione di 0.1 M).

Elettrodo/i di riferimento in Ag/AgCl sigillato/i all'interno del tubo di vetro.

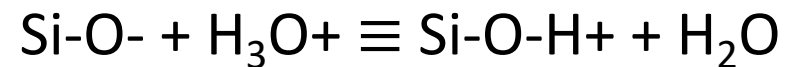
# L'elettrodo a vetro



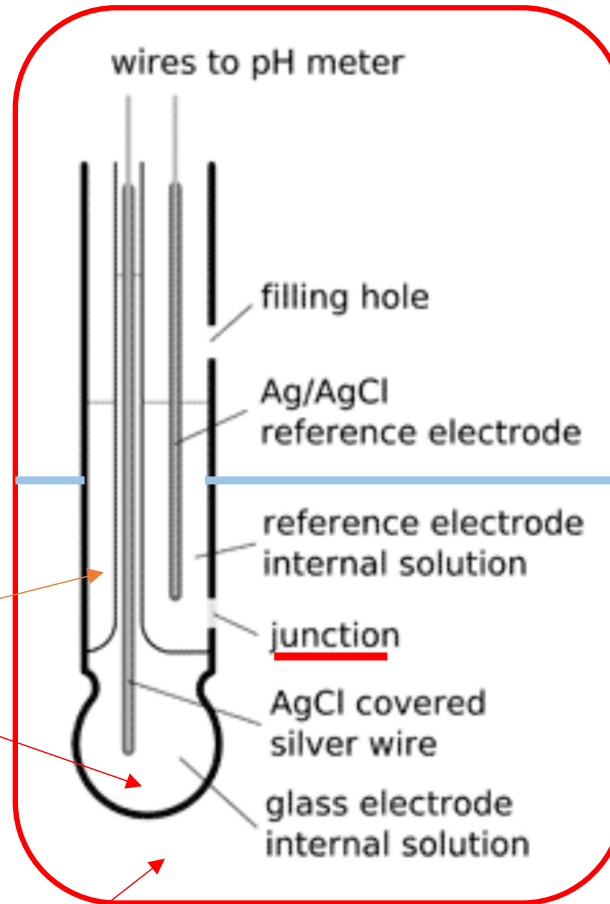
Elettrodo combinato



Protonazione dei gruppi silanologici (Si-O-H) sulla superficie del vetro:



# L'elettrodo a vetro



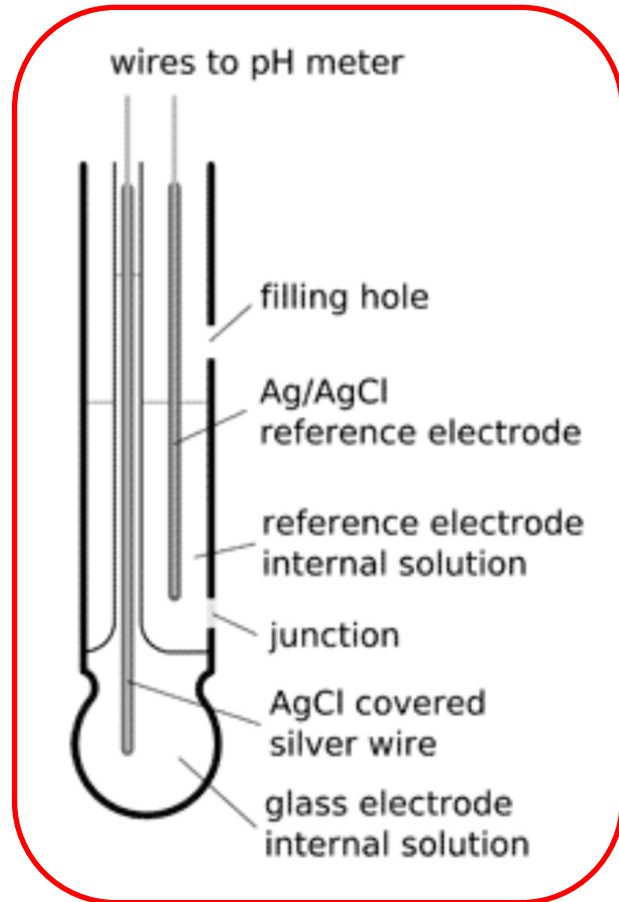
Scompartimenti separati!

Soluzione di misura

La parte attiva dell'elettrodo è la piccola bolla di vetro alla fine. Mentre il "tubo" è composto da un vetro spesso, **la parte finale è volutamente fabbricata più sottile possibile (< 0.1 mm)**. La superficie del vetro è protonata sia dalla soluzione interna che da quella esterna fino a che il sistema non raggiunge l'equilibrio.

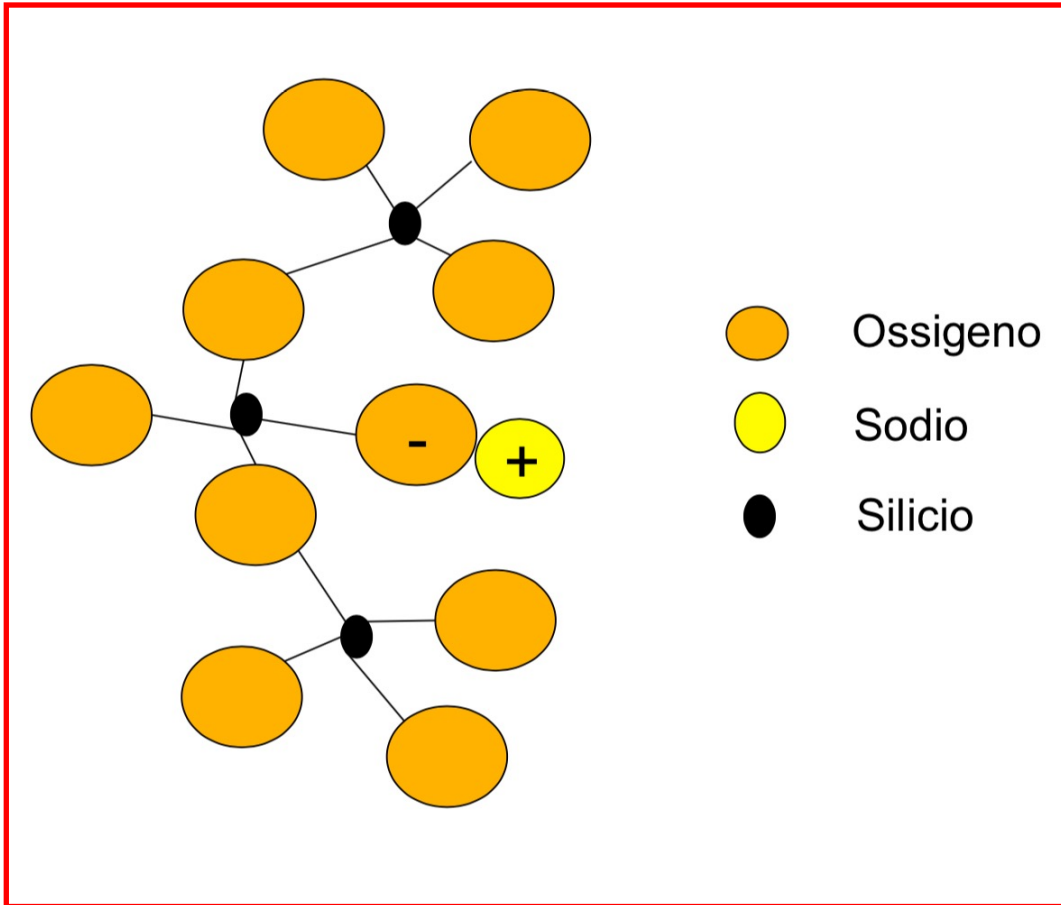
**Entrambe le parti della bolla si caricano** in virtù dell'assorbimento di protoni e questo determina una **differenza di potenziale tra interno ed esterno**. Questa differenza di potenziale è descritta dall'equazione di Nernst ed è direttamente proporzionale alla differenza di pH tra le due soluzioni (quella interna - di riferimento - e quella di misura).

# L'elettrodo a vetro



Ovviamente il **circuito tra soluzione interna ed esterna deve essere chiuso**, facendo però in modo che le due soluzioni non si cross-contaminino. Quindi le due soluzioni sono contemporaneamente “connesse” e “isolate”? Per ottenere ciò, **si utilizza un piccolo foro nella parete dell'elettrodo al cui interno è presente un setto poroso ceramico** (in versioni più vecchie si utilizzava l'asbesto...). In questo modo la soluzione interna è messa in comunicazione elettrica con quella esterna, chiudendo di fatto il circuito ma evitando il mescolamento delle soluzioni. Col tempo è possibile che la **soluzione di riferimento venga inquinata** da microscopiche quantità di liquido che filtrano attraverso il setto. Per rendere questo processo il più lento possibile (e aumentare così la vita dell'elettrodo stesso) alcuni elettrodi utilizzano elettroliti gel.

# L'elettrodo a vetro



La capacità dei **vetri sodio-silicati** di protonarsi in funzione del pH di una soluzione dipende dalla loro composizione chimica. La presenza nella loro struttura di ossidi di metalli alcalini provoca la **rottura di alcuni legami** Si-O e la formazione di legami Si-O-M<sup>+</sup> (con M<sup>+</sup> un generico atomo metallico).

Questi atomi metallici hanno un certo **grado di libertà** in virtù della debolezza con la quale sono legati all'atomo di ossigeno (**legame a lungo raggio non covalente**) e all'abbondanza di siti interstiziali nella struttura (ricordiamoci che il vetro è un materiale amorfo, NON cristallino).

Nel particolare caso dei vetri sodio-silicati, l'atomo metallico è l'Na<sup>+</sup>. Un altro particolare importante è la **possibilità che ha lo ione idrogeno di sostituirsi** a questi ioni Na<sup>+</sup>.

# L'elettrodo a vetro

---

## Funzionamento dei vetri ionosensibili

La struttura atomica amorfa di questi vetri contiene diverse **regioni cariche negativamente che possono essere occupate da piccoli ioni positivi**. In particolare, gli **atomi di ossigeno** del reticolo che non sono legati a due atomi di silicio hanno una **carica netta negativa**. In questo modo cationi come **Na<sup>+</sup> possono diffondere lentamente nel reticolo** saltando da una regione carica negativamente all'altra.

Questo fenomeno avviene soltanto nei primissimi nanometri superficiali del vetro, rendendo dunque possibile la misura di una **differenza di potenziale proporzionale alla concentrazione del catione nella soluzione di test**.

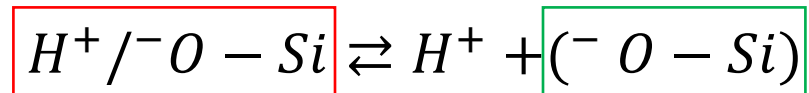
Le membrane a vetro sono **sensibili a ioni monovalenti** perché quelli polivalenti non riescono a penetrare nella superficie.

# L'elettrodo a vetro

---

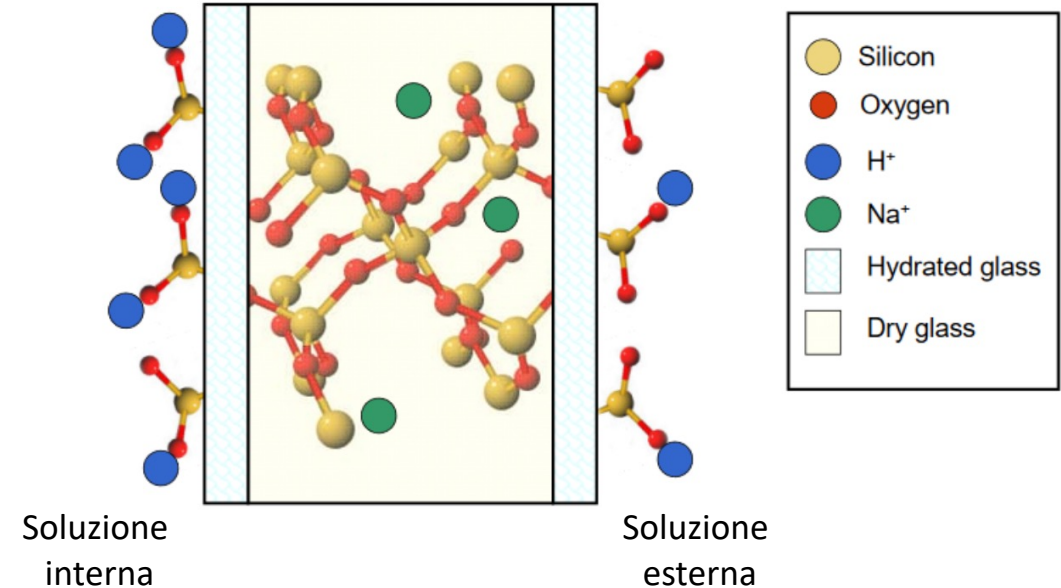
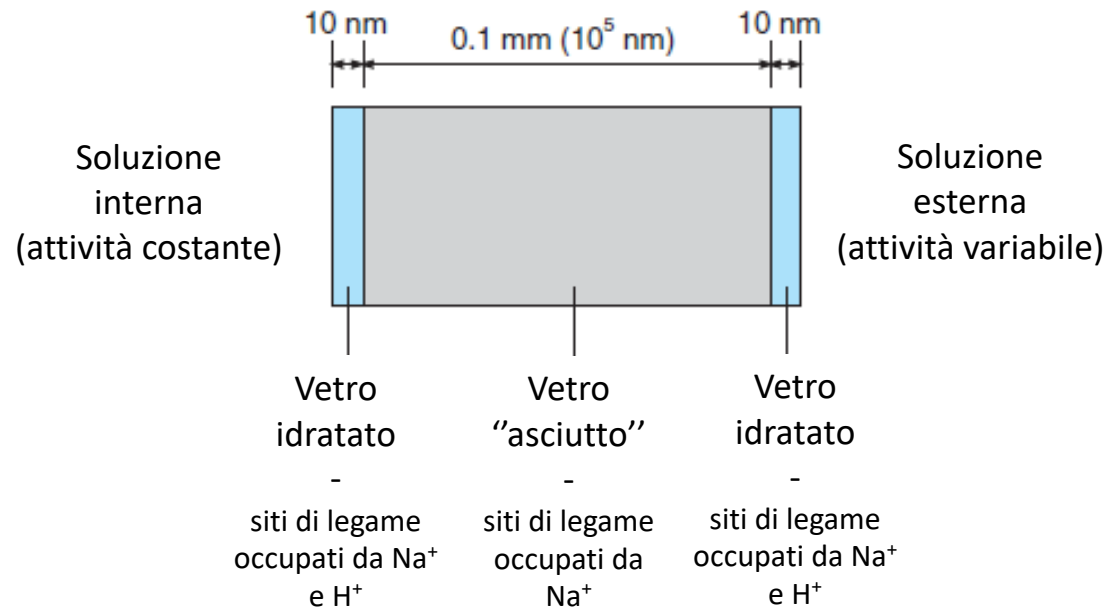
Quando questi vetri vengono messi in contatto con una soluzione acquosa, **la loro superficie si idrata** (molecole d'acqua riescono a **penetrare nei primi nanometri del materiale** provocando un fenomeno chiamato "swelling" - rigonfiamento). Il resto del vetro (la stragrande maggioranza del materiale), non viene invece idratato.

Dai primi layer superficiali (quelli idratati) **alcuni atomi metallici** presenti nel reticolo (che come abbiamo visto sono debolmente legati agli altri atomi) **riescono a passare in soluzione, dando la possibilità ad altrettanti ioni  $H^+$  di sostituirli**, legandosi agli atomi di ossigeno lasciati "liberi". In questo modo si instaura un equilibrio tra i siti negativi disponibili nel vetro e gli  $H^+$  in soluzione:



Dove  $H^+ / ^-O - Si$  e  $^-O - Si$  rappresentano i siti superficiali rispettivamente idratati e non idratati.

# L'elettrodo a vetro



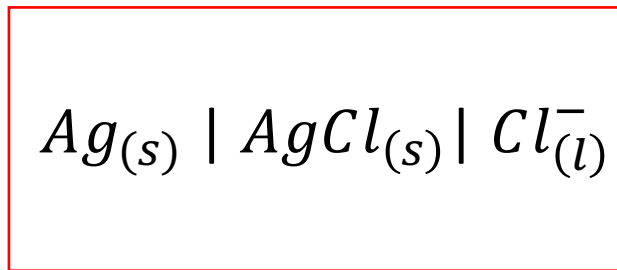
Formazione del potenziale attraverso la membrana (in breve):

- gli ioni H<sup>+</sup> presenti nelle soluzioni sostituiscono gli ioni metallici legati agli O<sup>-</sup> superficiali
- la composizione della soluzione interna è nota e costante: numero di H<sup>+</sup> legati agli O<sup>-</sup> all'interno costante
- quando l'attività degli ioni H<sup>+</sup> nella soluzione esterna cambia, la differenza di potenziale attraverso la membrana cambia (misurabile in virtù dell'alta resistenza della parte interna del vetro, la quale rimane non idratata)

# L'elettrodo a vetro

Essendoci due superfici a contatto con due soluzioni differenti, si instaureranno **due equilibri dipendenti dalle attività degli ioni  $H^+$  nelle due soluzioni:**

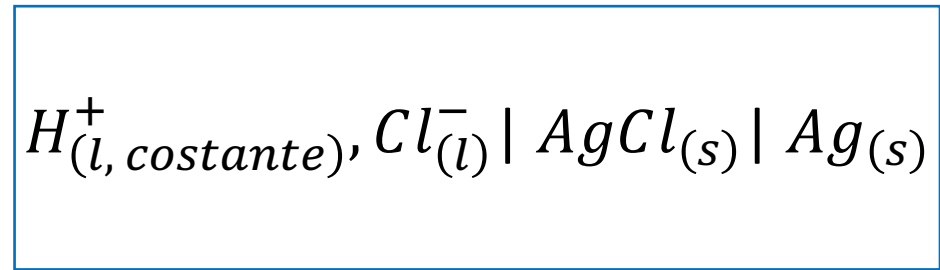
Elettrodo Ag/AgCl esterno al bulbo  
(riferimento)



Setto poroso



Elettrodo Ag/AgCl interno al bulbo



Membrana di vetro

# L'elettrodo a vetro

---

Dunque nel vetro è garantita la **mobilità degli ioni Na<sup>+</sup>**. Grazie alle loro proprietà, quando uno di questi vetri viene immerso in una soluzione elettrolitica, **gli ioni tendono a diffondere dal vetro alla soluzione**, mentre **gli ioni H<sup>+</sup> tendono a diffondere nel vetro**, prendendo i "posti vacanti" lasciati degli Na<sup>+</sup>.

Questo fenomeno provoca la **variazione di energia libera del sistema**, determinando l'insorgenza di una differenza di potenziale i quali contributi saranno:

$$E = E_{ref1} + E_{ref2} + E_t + E_g = E' + 2.3 \frac{RT}{nF} \log \left( \frac{a_1}{a_2} \right)$$

**$E_{ref1}$  e  $E_{ref2}$**  sono noti in quanto sono relativi ai potenziali dei due elettrodi Ag/AgCl (e le concentrazioni delle loro soluzioni è da considerarsi costante);  **$E_t$**  rappresenta invece la **differenza di potenziale all'interfaccia fra la soluzione di test e l'elettrodo di riferimento** (attraverso il ponte salino) ed è sempre trascurabile;  **$E_g$**  è invece la **differenza di potenziale attraverso la membrana di vetro** (densità di carica superficiale interna diversa da quella esterna, la quale dipende dall'attività dello ione H<sup>+</sup> della soluzione test).

# L'elettrodo a vetro: non solo H<sup>+</sup>

---

Il potenziale che si verrà ad instaurare ai capi della membrana può essere soggetto all'influenza di più ioni. Considerando due generici ioni **a** e **b** avremo:

$$E = E' + 2.3 \frac{RT}{F} \log(a_a + K_{ab} \cdot a_b)$$

dove E' (che spesso si trova impropriamente indicato come il potenziale standard) rappresenta la **somma dei potenziali relativi alla superficie interna del vetro con la soluzione interna e i potenziali dei due elettrodi Ag/AgCl ed è un offset costante.**

In generale si può tenere conto della presenza di più ioni (tipicamente piccoli cationi quali per esempio k<sup>+</sup> e Li<sup>+</sup>). In quel caso la relazione generale sarà:

$$E = E' + 2.3 \frac{RT}{F} \log \left( a_i + \sum_j K_{ij} \cdot a_j \right)$$

# L'elettrodo a vetro: non solo H<sup>+</sup>

---

$K_{ij}$  è una costante che indica la **sensibilità relativa dell'elettrodo ai due ioni**. Se i due ioni coinvolti sono H<sup>+</sup> e Na<sup>+</sup>, il potenziale sarà:

$$E = E' + 2.3 \frac{RT}{F} \log(a_{H^+} + K_{H^+/Na^+} \cdot a_{Na^+})$$

dunque più piccola è la quantità  $K_{H^+/Na^+} \cdot a_{Na^+}$ , più la risposta dell'elettrodo sarà ideale.

Il funzionamento di un elettrodo a vetro è dunque legato alle **proprietà della membrana di vetro** utilizzata. Le principali caratteristiche che un elettrodo di questo tipo deve avere sono:

- resistenza elettrica idealmente nel range 10-100 MΩ
- operatività in un range di pH ampio
- stabilità chimica

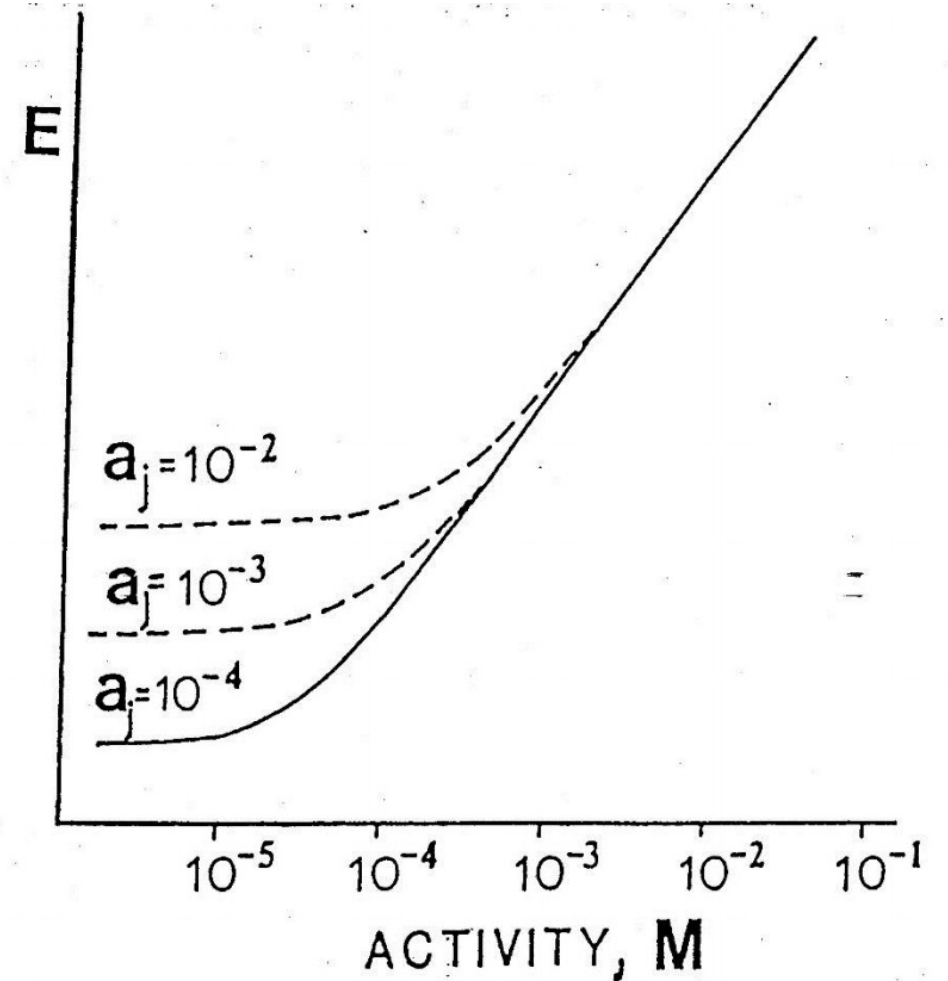
# L'elettrodo a vetro: non solo H<sup>+</sup>

L'equazione completa che descrive l'effetto della presenza di altri ioni è la seguente:

$$E = E' + 2.3 \frac{RT}{F} \log \left( a_i + \sum_j K_{ij} \cdot a_j^{z_i/z_j} \right)$$

che è anche chiamata equazione di **Nikolskij-Pungor-Eisenman**. Il termine  $z_i/z_j$  è un fattore di conversione che tiene conto della carica delle due specie. **Più piccolo è il termine  $K_{ij} \cdot a_j$ , maggiore è la selettività dell'elettrodo allo ione i.**

$K_{ij}$  viene determinata sperimentalmente e dipende principalmente dalla composizione del vetro.



# L'elettrodo a vetro per misure di Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup>

---

Per il vetro sodico NAS11-18 (usato per il sensing di Na<sup>+</sup>), la **relazione completa** che lega il potenziale agli ioni Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> e H<sup>+</sup> è la seguente:

$$E = E' + 2.3 \frac{RT}{F} \log(a_{Na^+} + 10 \cdot a_{H^+} + 0.005 \cdot a_{K^+})$$

mentre per il vetro NAS27-4 (selettivo al potassio) abbiamo, tralasciando il termine relativo al pH:

$$E = E' + 2.3 \frac{RT}{F} \log(a_{K^+} + 10 \cdot a_{Na^+})$$

# L'elettrodo a vetro per misure di Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup>

---

**Forte dipendenza dalle condizioni di misura.** Conoscendo infatti la sensibilità relativa ( $K_{ij}$ ) e il campo applicativo, è possibile comunque utilizzarli minimizzando gli errori dovuti alla inevitabile non specificità.

Esempio: **Monitoraggio della concentrazione del sodio nel liquido extracellulare.** Utilizzando un comune vetro sodico (per esempio il NAS11-18), il potenziale relativo alla rilevazione del Na<sup>+</sup> sarà (trascurando il pH):

$$E = E' + 2.3 \frac{RT}{F} \log(a_{Na^+} + 0.005a_{K^+})$$

In questo specifico caso, in cui cioè la concentrazione di Na<sup>+</sup> è molto maggiore di quella del K<sup>+</sup> (rispettivamente  $153 \cdot 10^{-3} M$  e  $5 \cdot 10^{-3} M$ ) e la sensibilità relativa è 2000 volte maggiore per l'Na<sup>+</sup>, siamo perfettamente in grado di rilevare con sicurezza la sua concentrazione.

# L'elettrodo a vetro per misure di Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup>

Diverso è invece il caso in cui volessimo monitorare nello stesso ambiente il potassio (utilizzando un vetro selettivo al potassio). In questo caso avremmo:

$$E = E' + 2.3 \frac{RT}{F} \log(a_{K^+} + 10 \cdot a_{Na^+})$$

La misura del potassio sarà pesantemente influenzata dalla presenza del sodio e dalla **cross-sensibilità elevata della membrana**. Lo stesso approccio sarebbe invece efficace nel caso in cui si misurasse la concentrazione del potassio nel liquido intracellulare, nel quale la sua concentrazione è molto maggiore di quella del sodio.

Sostanza (mEq/L)	Liquido extracellulare	Liquido intracellulare
Na <sup>+</sup>	140	14
K <sup>+</sup>	4	120
Ca <sup>2+</sup>	2,5	10 <sup>-4</sup>
Cl <sup>-</sup>	105	10
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	24	10
pH	7.4	7.1
Osmolarità (mOsm/L)	290	290

# L'elettrodo a vetro

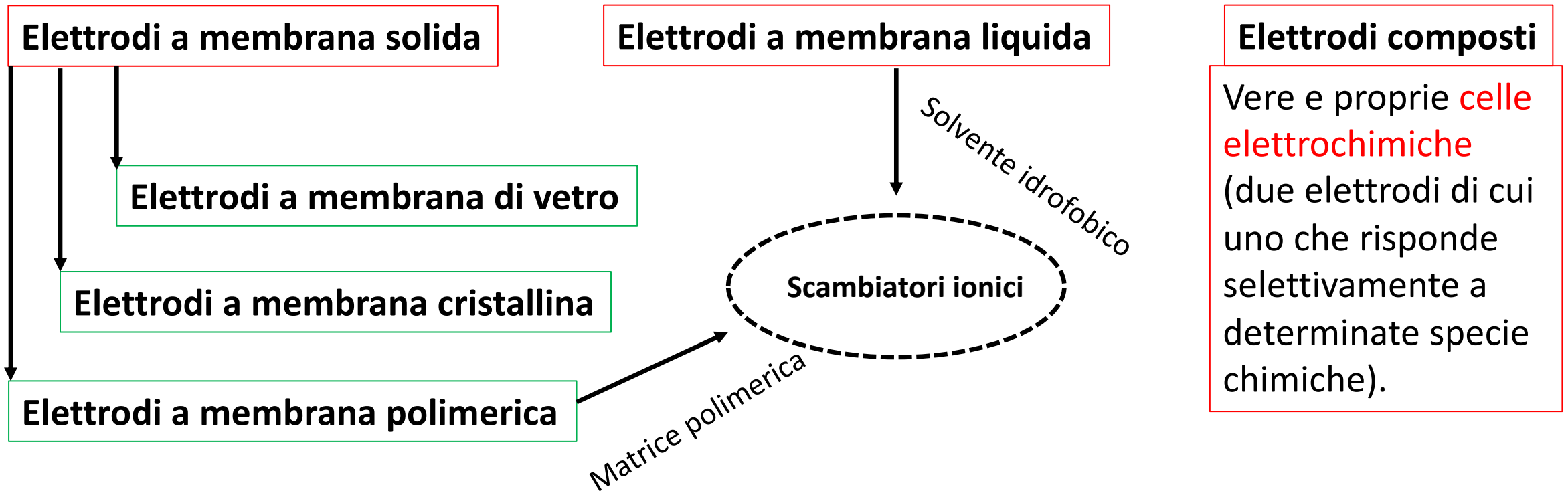
---

**Meccanismo microscopico:** legato alle **proprietà specifiche di questi vetri ionoselettivi**. La sensibilità è data dalle loro proprietà fisiche e all'instaurarsi di un **equilibrio di scambio** di ioni sodio tra la matrice del vetro (a base di silicio) e le due soluzioni (interna ed esterna).

**Meccanismo macroscopico:** l'efficienza macroscopica la valutiamo in termini di capacità della membrana di **sviluppare ai suoi capi una differenza di potenziale** (misurata rispetto a degli elettrodi di riferimento) legata all'attività degli ioni d'interesse ( $H^+$ ,  $K^+$ ,  $Na^+$ ...).

# Elettrodi a membrana iono-selettiva

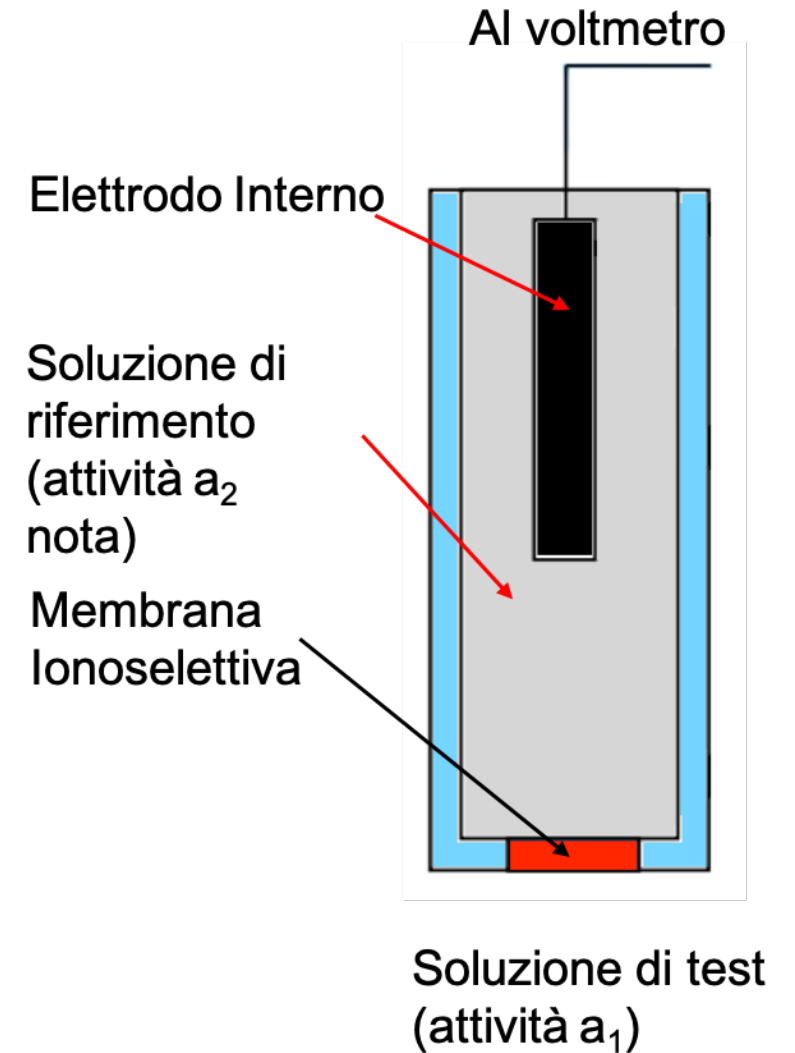
Gli esempi appena visti rappresentano un **sottogruppo della più vasta famiglia degli elettrodi iono-selettivi**. Oltre a quelli a membrana di vetro, esistono numerosi altri approcci, più o meno utilizzati in ambito biomedico:



# Elettrodi a membrana iono-selettiva

Lo schema di un generico elettrodo a membrana iono-selettiva è mostrato in figura (sola cella di misura). Si possono riconoscere le seguenti parti:

- **elettrodo (solitamente Ag/AgCl)** immerso in una soluzione di riferimento a concentrazione nota e costante.
- **membrana posizionata sul fondo dell'involucro** contenente elettrodo e soluzione. Questa è la parte dell'elettrodo che fornisce la **sensibilità ad una data specie ionica**. In particolare, tra le sue due interfacce (quella interna con la soluzione nota e quella esterna con la soluzione di test) si stabilisce una ddp dovuta alla differenza di concentrazione di analita tra le due soluzioni.

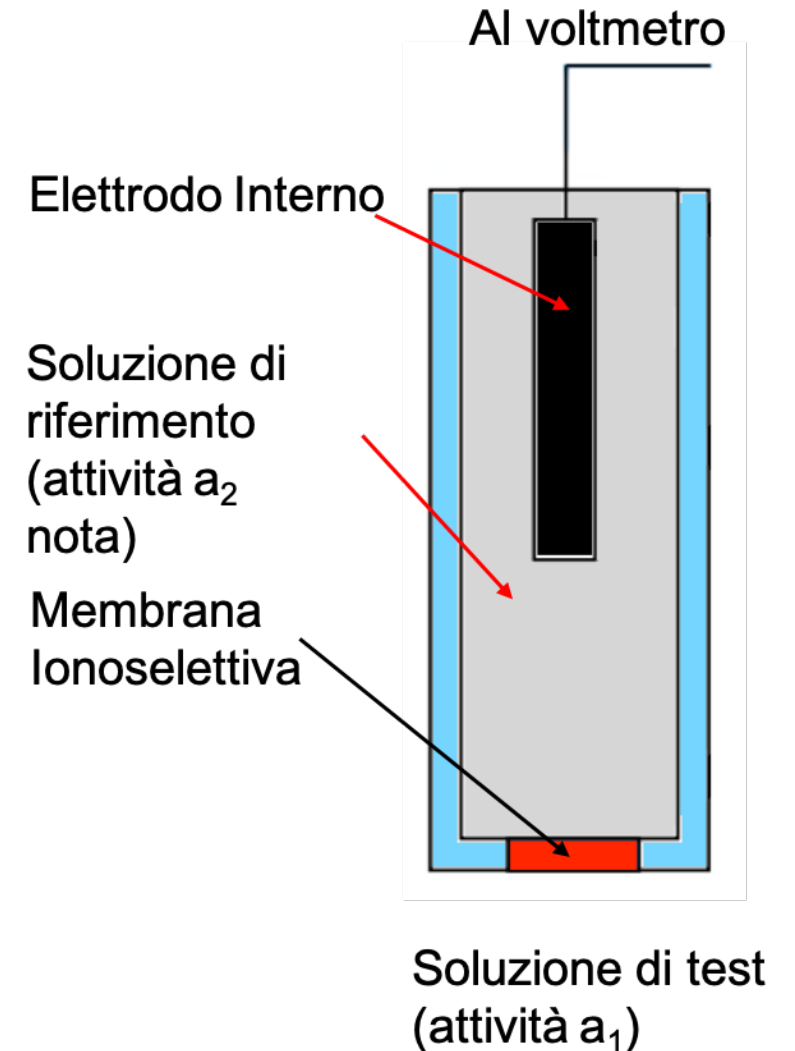


# Elettrodi a membrana iono-selettiva

I fenomeni che vedremo avvengono (idealmente) solo all'interfaccia membrana/elettrolita (come negli elettrodi a membrana a vetro).

Gli ioni all'interfaccia tenderanno a penetrare i primi nm della membrana, nella quale sarà presente un qualche sito che li potrà accogliere (spoiler: ionoforo, lacuna...).

Se le attività  $a_1$  e  $a_2$  sono diverse, si instaurerà una ddp ai capi della membrana.



# Elettrodi a membrana iono-selettiva

Considerando dunque la configurazione mostrata, il potenziale dell'elettrodo sarà:

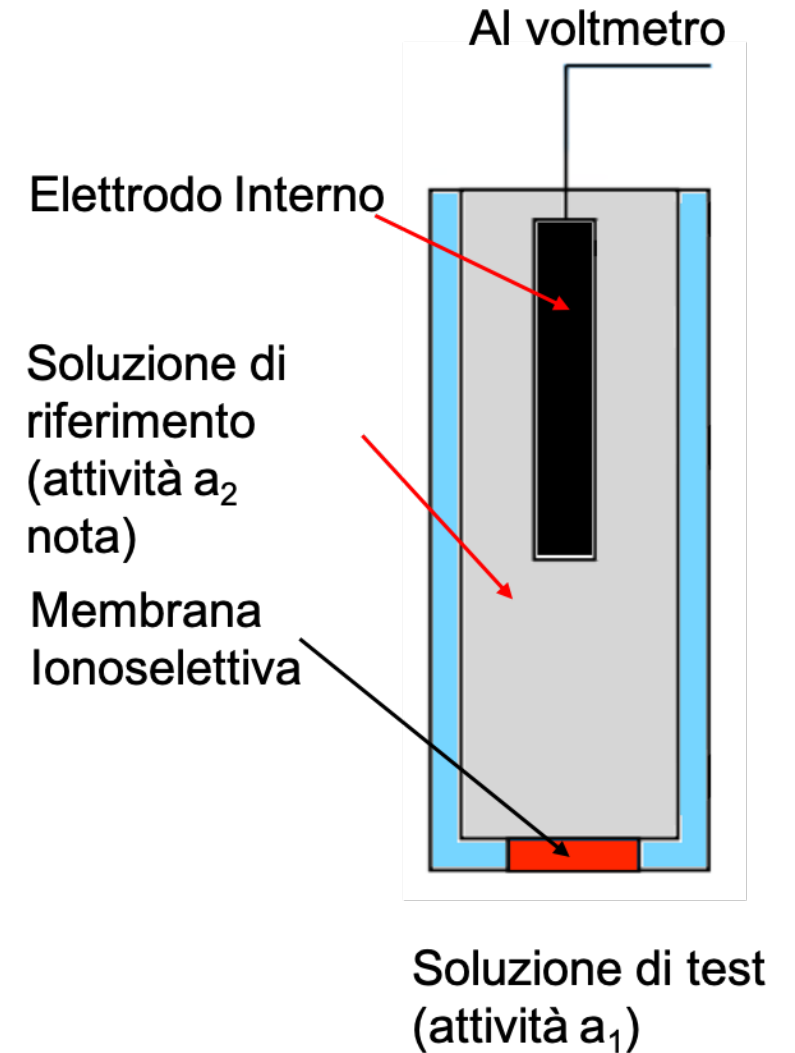
$$E = E' + 2.3 \frac{RT}{nF} \log \left( \frac{a_1}{a_2} \right)$$

Dato che una delle due soluzioni è **nota e ad attività costante**, il potenziale dell'elettrodo relativo ad uno ione  $i$  si può riscrivere come:

$$E = E' + 2.3 \frac{RT}{nF} \log(a_i) = E' - 2.3 \frac{RT}{nF} p(i)$$

Nel caso dello ione  $H^+$  avremo il potenziale caratteristico di un pH-meter:

$$E = E' + 2.3 \frac{RT}{nF} \log \left( \frac{[H_1^+]}{[H_2^+]} \right) = E' - 2.3 \frac{RT}{nF} pH$$



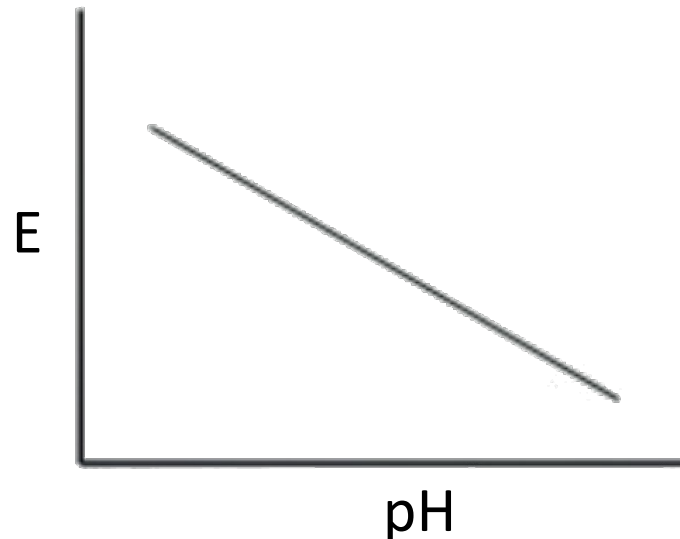
# Limite di Nernst

---

Alla temperatura di 25°C avremo:

$$E = E' + 2.3 \frac{RT}{nF} \log \left( \frac{[H_1^+]}{[H_2^+]} \right) = E' - \frac{0.059}{n} pH$$

Considerando una zona in cui l'elettrodo risponde linearmente avremo dunque una **pendenza massima di 59 mV/pH**, che corrisponde al cosiddetto **limite di Nernst**.



# Elettrodi a membrana iono-selettiva

---

**Utilizzo degli elettrodi a membrana iono-selettiva in ambito medicale.** Nonostante l'introduzione alla fine degli anni 60 di sistemi per la rilevazione automatica di  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{H}^+$  e  $\text{Cl}^-$ , il loro impiego in ambito biomedico non ha visto la massiccia crescita che invece hanno avuto gli elettrodi a vetro per le misure di pH.

È infatti **difficile garantire la necessaria stabilità** delle membrane ionoselettive polimeriche, le quali tendono a degradarsi più velocemente rispetto per esempio agli elettrodi basati su vetro sodio-silicato.

Spesso cross-sensibilità non trascurabile.

Un altro motivo è l'introduzione di **sistemi basati su fotometri ad emissione**, i quali presentano prestazioni in termini di stabilità e sensibilità spesso superiori a quelle degli elettrodi. Il problema di questi strumenti è che non possono generalmente effettuare misure veloci in condizioni continue (necessitano infatti di macchinari, complessi, costosi e ingombranti).

# Elettrodi a membrana iono-selettiva

---

Cosa può offrire in più un elettrodo a membrana ionoselettiva rispetto ai fotometri ad emissione?

Gli elettrodi forniscono una indicazione **dell'attività ionica** mentre i fotometri solo della concentrazione totale nel campione (questo – cioè una misura dell'attività piuttosto che della concentrazione - può essere utile in condizioni lontane dall'idealità).

Possono essere utilizzati per **misure molto rapide (secondi o minuti) su piccoli volumi**.

Bassi costi.

# Elettrodi a membrana iono-selettiva

---

Nonostante queste limitazioni, può aver senso utilizzare questo tipo di elettrodi per specifiche applicazioni, come quelle che necessitano **misure rapide e frequenti** magari in situazioni, come la **terapia intensiva**, dove il tempo necessario per prelevare un campione, mandarlo in laboratorio e analizzarlo potrebbe discriminare tra la vita e la morte del paziente.

Tra i vari ioni utili da monitorare in questa maniera c'è sicuramente il potassio ( $K^+$ ). Questo ione **può infatti subire variazioni improvvise** in condizioni quali **shock diabetico** e **occlusione coronarica**. In alcuni casi una sua variazione repentina può indicare l'insorgenza di **complicazioni post-operatorie**.

L'utilizzo di un elettrodo in questa specifica applicazione (rilevazione del  $K^+$ ) può dunque essere ampiamente giustificato, in quanto garantirebbe la **possibilità di effettuare misure in situ direttamente all'interno delle unità di terapia intensiva**.

# Elettrodi a membrana iono-selettiva

Clinical Report

## Serum potassium levels and outcomes in critically ill patients in the medical intensive care unit

Surat Tongyoo, Tanuwong Viarasilpa and Chairat Permpikul

tions in their serum  $K^+$  level. Reduced kidney function, the presence of metabolic acidosis, use of mechanical ventilation, and increases in cell turnover promote  $K^+$  accumulation. Certain medications such as insu-



Journal of  
INTERNATIONAL  
MEDICAL RESEARCH

Journal of International Medical Research  
2018, Vol. 46(3) 1254-1262  
© The Author(s) 2018  
Reprints and permissions:  
sagepub.co.uk/journalsPermissions.nav  
DOI: 10.1177/0300060517744427  
journals.sagepub.com/home/imr



The normal serum  $K^+$  level is 3.5 to 4.5 mEq/L.<sup>1,2</sup> An abnormal  $K^+$  level predisposes a patient to serious complications, especially cardiac arrhythmia and muscle weakness, which may provoke sudden cardiac arrest and/or respiratory failure.

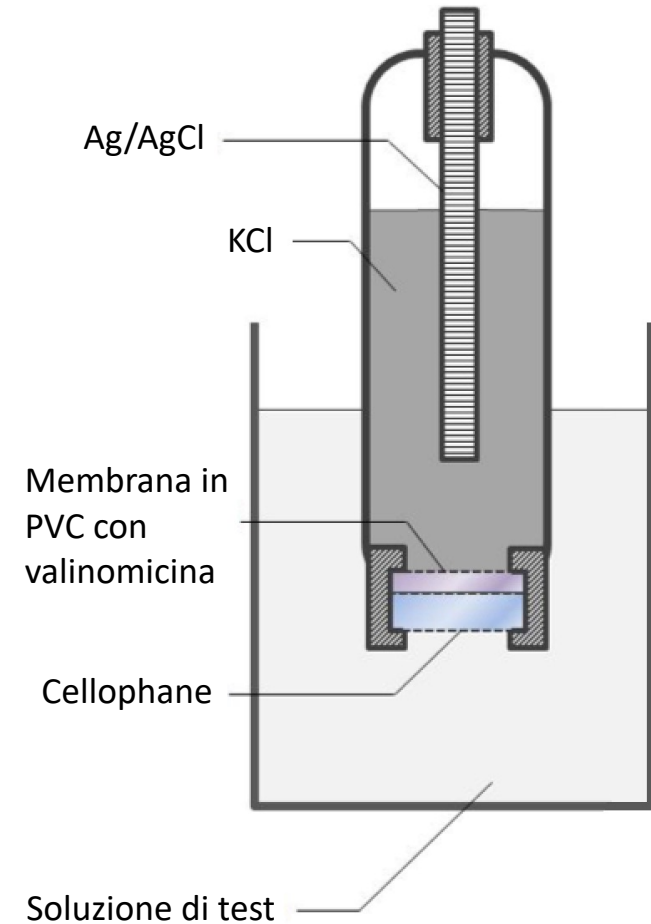
increase serum  $K^+$ . Hypokalemia and hyperkalemia can both induce cardiac arrhythmias.<sup>3-5</sup> Previous reports have revealed an association between the  $K^+$  level and outcomes of acute myocardial infarction<sup>6</sup> and cardiac surgery.<sup>7</sup> McMahon et al.<sup>8</sup> reported an increased 30-day mortality rate among patients with a high serum  $K^+$  level at the initiation of critical care. Based on our review of the lit-

# Elettrodi a membrana iono-selettiva

Elettrodo ionoselettivo per il potassio ( $K^+$ ). La membrana (protetta da uno **strato semipermeabile di cellophane**) è realizzata in **PVC impregnato di valinomicina**, mentre l'elettrodo interno è in Ag/AgCl mantenuto in una soluzione di KCl 4 mM. Nella sua configurazione iniziale, il riferimento esterno era un elettrodo a calomelano collegato attraverso un ponte salino di KCl saturo.

La funzione del cellophane è principalmente quella di proteggere la membrana vera e propria dall'eventuale inquinamento dovuto alla diffusione di molecole di grandi dimensioni (tipicamente proteine – il cosiddetto **protein fouling**) dalla soluzione di misura.

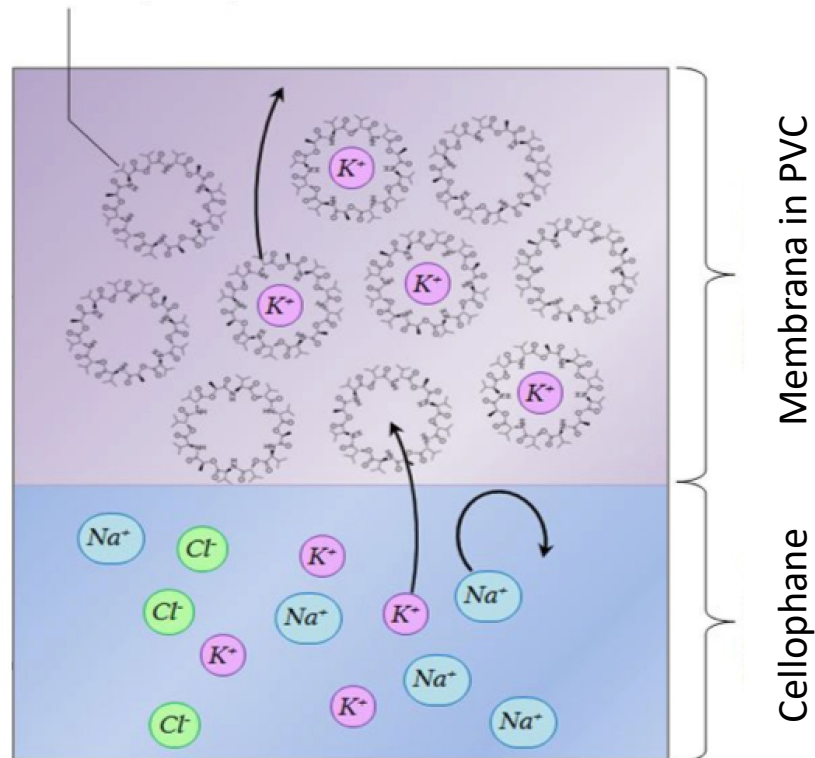
Risposta pari al 97—99 % di quella prevista dall'equazione di Nernst.



# Elettrodi a membrana iono-selettiva

La valinomicina fa parte della famiglia degli **ionofori**, ossia macro-molecole capaci di legarsi a specifici ioni. **Nella pratica clinica è usato come antibiotico** grazie alla sua capacità di effettuare il trasporto attraverso le membrane lipidiche (si sfrutta la sua capacità di alterare l'equilibrio ionico di organismi monocellulari quali i batteri).

Valinomicina

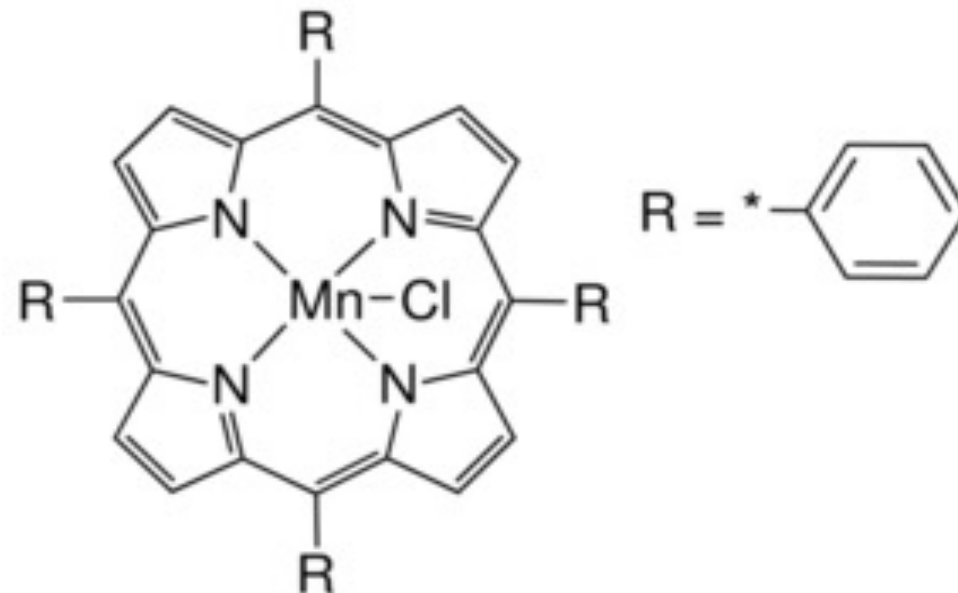




# Elettrodi a membrana iono-selettiva

L'approccio "PVC-ionoforo" è sfruttato anche per la rilevazione di altri ioni d'interesse biomedico quali il  $\text{Cl}^-$  e  $\text{Na}^+$ . **Per quanto riguarda il  $\text{Cl}^-$** , sono stati utilizzati negli anni diversi ionofori:

- Sali di ammonio quaternari (QAS) aggiunti al PVC
- **Metallo porfirine**
- Carrier neutri come tridodecylmethylammonium chloride (TDMAC).

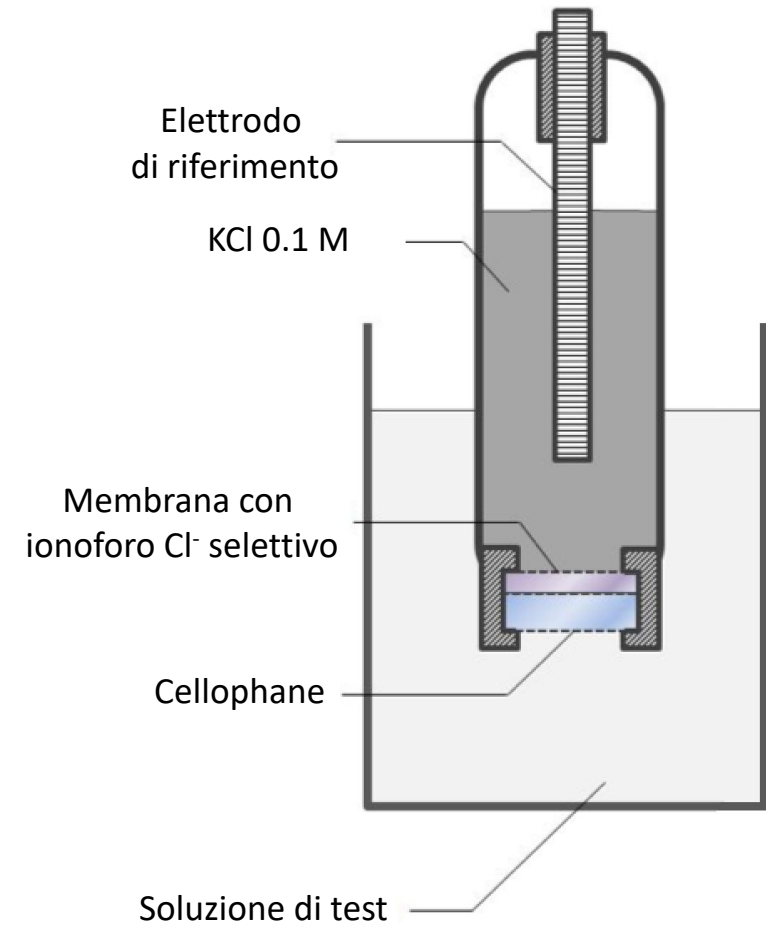


5,10,15,20-Tetraphenyl-21H,23H-porphine manganese(III) chloride

# Elettrodi a membrana iono-selettiva

La struttura dell'elettrodo è del tutto assimilabile a quella dell'elettrodo per il potassio:

- Una membrana di cellophane protegge la **membrana selettiva ai  $\text{Cl}^-$** .
- La soluzione interna (in cui è immerso l'elettrodo di riferimento in Ag/AgCl) è solitamente KCl 0.1 M
- A quanto corrisponderà la **variazione di potenziale** misurata attraverso la membrana se la concentrazione degli ioni  $\text{Cl}^-$  nel siero fosse pari a 0.1 M?



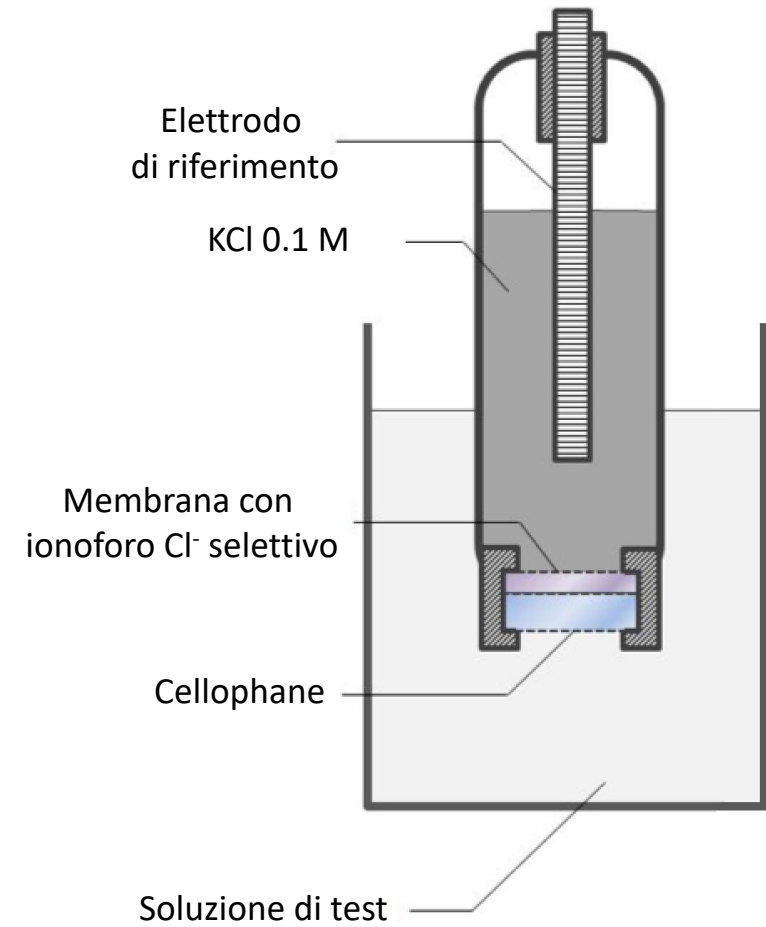
# Elettrodi a membrana iono-selettiva

La struttura dell'elettrodo è del tutto assimilabile a quella dell'elettrodo per il potassio:

- Una membrana di cellophane protegge la **membrana selettiva ai Cl<sup>-</sup>**.
- La soluzione interna (in cui è immerso l'elettrodo di riferimento in Ag/AgCl) è solitamente KCl 0.1 M.

$$E = E' + 2.3 \frac{RT}{nF} \log \left( \frac{a_{test}}{a_{int}} \right)$$

- La concentrazione del cloro nel plasma (cloremia) è considerata normale nel range 98-107 mmol/L



# Elettrodi a membrana iono-selettiva

---

Il PVC è stato via via sostituito con altri materiali (per esempio alcuni sol-gel 10 % TDMAC, 57 % diisodecyl adipate e 33% PVC garantiscono una maggiore selettività), o integrati con **agenti plastificanti** come NPOE o DOP.

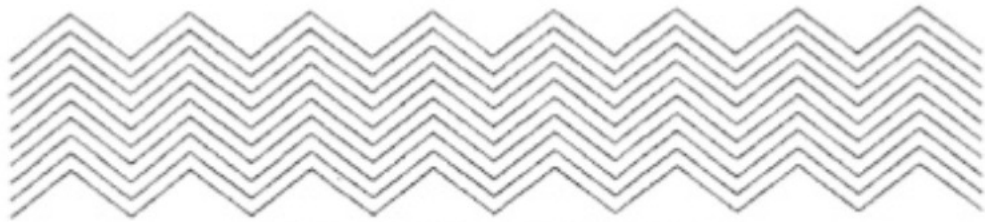
Gli agenti plastificanti sono molecole a peso molecolare relativamente basso che hanno la capacità di **migliorare le proprietà meccaniche e dielettriche della membrana**, rendendola più resistente e durevole. Migliorano anche la stabilità dell'agente ionoselettivo, garantendo una ottimale mobilità degli ioni all'interno della membrana.

- non volatili e con alta temperatura di ebollizione
- non tossici

# Elettrodi a membrana iono-selettiva

Esempio: aggiunta di un plastificante al PVC. Grazie alle loro catene alchiliche relativamente lunghe, riescono a **frapporsi tra una catena e l'altra del PVC**, impedendo la formazione di interazioni inter-catena (le quali conferiscono rigidità al materiale).

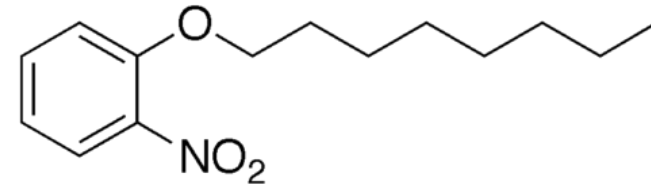
PVC senza plastificante



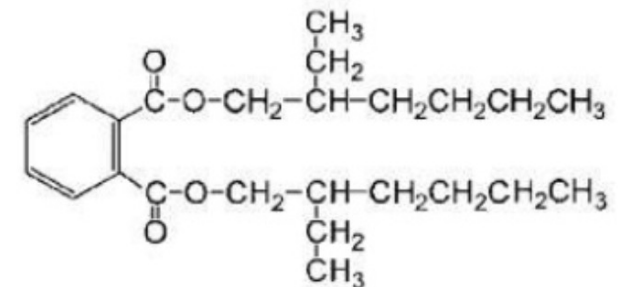
PVC con plastificante



Struttura dell'NPOE

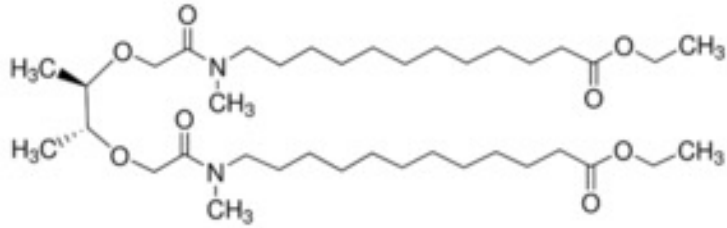


Struttura del DOP

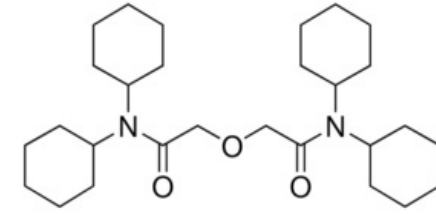




# Elettrodi a membrana iono-selettiva



(-)-(R,R)-N,N'-Bis-[11-(ethoxycarbonyl)undecyl]-N,N',4,5-tetramethyl-3,6-dioxaoctane-diamide, Diethyl N,N'-[(4R,5R)-4,5-dimethyl-1,8-dioxo-3,6-dioxaoctamethylene]bis(12-methylaminododecanoate), **ETH 1001**



N,N,N',N'-Tetra[cyclohexyl]diglycolic acid diamide, N,N,N',N'-Tetracyclohexyl-3-oxapentanediamide, **ETH 129**

# Elettrodi a membrana iono-selettiva

---

## Perché è importante la misura di $\text{Ca}^{2+}$ ?

Gli ioni  $\text{Ca}^{2+}$  hanno un ruolo fondamentale nella **trasmissione dei segnali elettrici in cellule nervose e muscolari**, in quanto agisce da secondo messaggero nei processi di rilascio dei quanti di neurotrasmettitore e nel processo che porta dal segnale elettrico alla contrazione muscolare.

È uno degli ioni fondamentali per il **mantenimento del potenziale di equilibrio cellulare** ed è ovviamente un importante indicatore della corretta **formazione e funzionalità del tessuto osseo** (all'interno del quale è stoccata la maggior parte del calcio).

# Elettrodi a membrana iono-selettiva

---

## Perché è importante la misura di $\text{Cl}^-$ ?

Lo ione  $\text{Cl}^-$  è uno dei più importanti elettroliti presenti nel sangue. È infatti essenziale per **mantenere l'equilibrio tra i liquidi intra ed extra cellulari** e interviene in tutta una serie di meccanismi regolatori che controllano il volume, la pressione e il pH sanguigno e degli altri fluidi corporei. Viene rilevato solitamente insieme al **sodio**, al **potassio** e al **bicarbonato** in modo da "fotografare" lo stato metabolico del paziente.

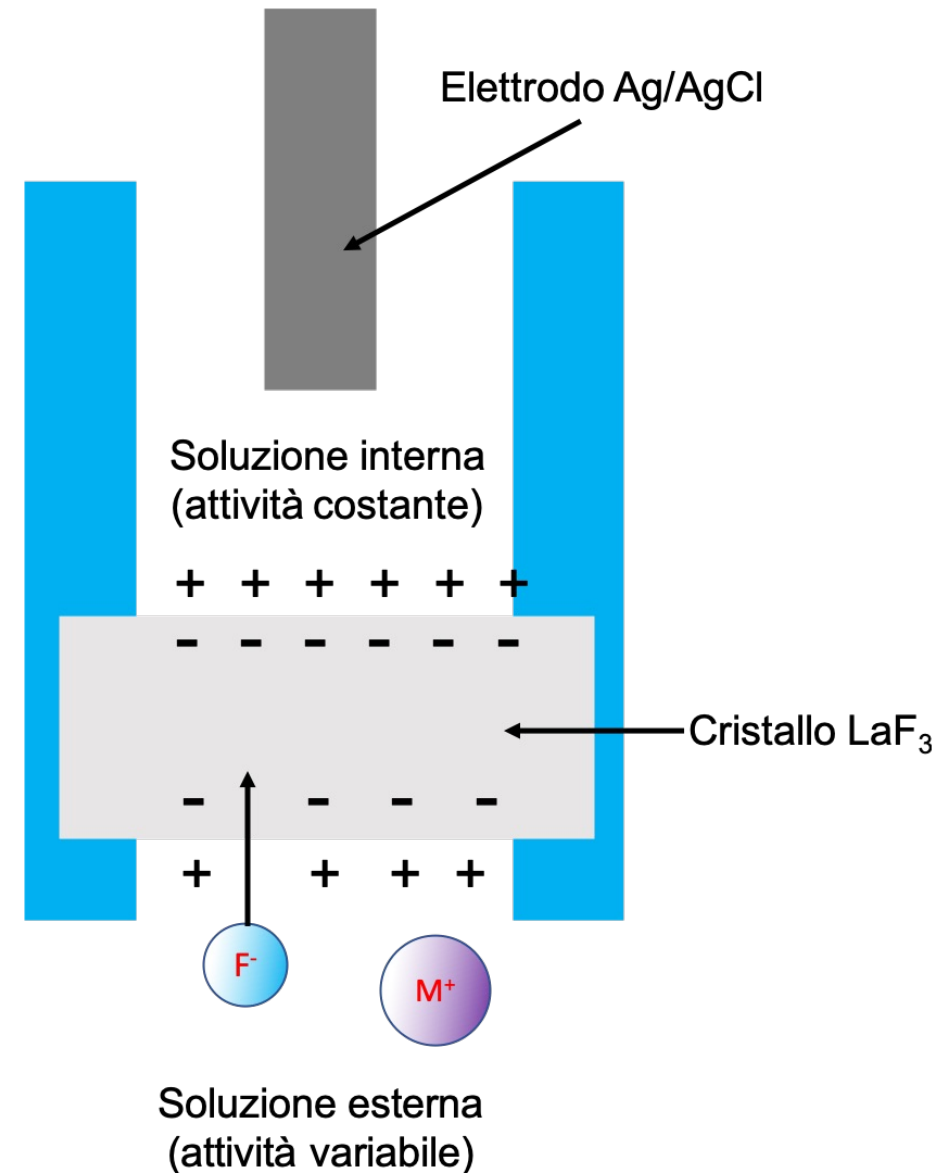
La maggior parte del  $\text{Cl}^-$  presente nel corpo arriva dalla dieta (viene principalmente assorbito per via intestinale). È comune la sua rilevazione nelle urine (in quanto il suo eccesso viene gestito per via renale) e la sua **rilevazione nel sudore** è uno dei parametri d'interesse quando si valuta la presenza di patologie quali la **fibrosi cistica**.

# Elettrodi a membrana iono-selettiva

## Elettrodi a membrana solida cristallina

I più utilizzati sono costituiti da cristalli contenenti fluoruri. Un tipico materiale è il  $\text{LaF}_3$  (fluoruro di Lantanio) dopato con Eu. Limite di rilevabilità  $10^{-6}$  mol/L.

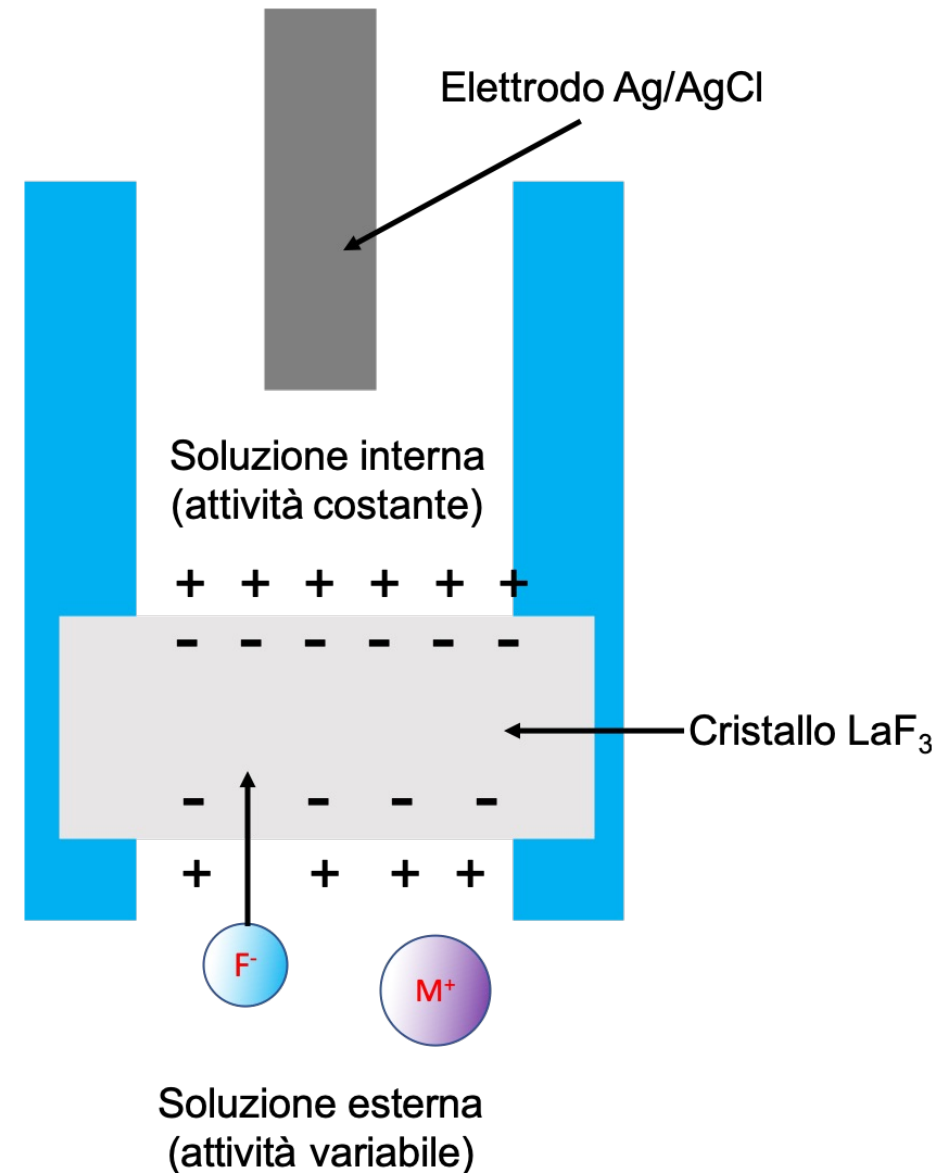
Il principio di funzionamento di questi elettrodi è basato sulla presenza di **lacune ioniche nel cristallo** dovute al **drogaggio con Eu**. Una lacuna ionica è semplicemente un sito nel reticolo in cui manca lo ione che dovrebbe occuparlo (ricorda qualcosa?).



# Elettrodi a membrana iono-selettiva

## Elettrodi a membrana solida

Nel caso di cristalli di  $\text{LaF}_3$ , se sono presenti ioni  $\text{F}^-$  nella soluzione di test, questi possono occupare le lacune presenti sulla superficie del **cristallo richiamando un ugual numero di contro-ioni all'interfaccia** cristallo/soluzione. Se la quantità di ioni presenti all'interno dell'elettrodo è diversa da quella della soluzione di test, una ddp si instaura attraverso il cristallo, e questa ddp dipenderà dall'attività degli ioni in soluzione. **Le lacune presenti nel reticolo sono altamente selettive**, dunque possono essere occupate solamente dal proprio ione naturale.



# Elettrodi a membrana iono-selettiva

Ione	Mezzo di scambio	Range operativo (M)	pH range	Resistenza elettrodi (M $\Omega$ )	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 <sub>3</sub> : 0.5
Ca <sup>++</sup>	liquido organico	1 $10^{-5}$ fino 1	pCa < pH < 10	<500	Ba <sup>++</sup> , Sr <sup>++</sup> ; Ni <sup>++</sup> , Mg <sup>++</sup> : 1 $10^{-2}$ Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> : 1 $10^{-3}$
Cl-	AgCl (poli-cristallino)	5 $10^{-5}$ fino 1	0 < pH < 13 pCl	<10	Br-: 300 I-: 2 $10^6$ CN-: 5 $10^6$ OH-: 0.012 NH <sub>3</sub> : 8 S <sup>2-</sup> -deve essere assente
Cu <sup>++</sup>	CuS-Ag <sub>2</sub> 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 <sup>2+</sup> ; Fe <sup>3+</sup> : 10

# Elettrodi a membrana iono-selettiva

Ione	Mezzo di scambio	Range operativo (M)	pH range	Resistenza elettrodi (M $\Omega$ )	Interferenti (sensibilità)
F <sup>-</sup>	LaF <sub>3</sub> (cristallo singolo)	1 10 <sup>-6</sup> fino 1	0 < pH < 12	< 5	Br <sup>-</sup> , Cl <sup>-</sup> , I <sup>-</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> : 1 10 <sup>-3</sup> OH <sup>-</sup> : 0.1
I <sup>-</sup>	AgI (cristallo)	5 10 <sup>-8</sup> fino 1	0 fino 14	< 10	Cl <sup>-</sup> : 1 10 <sup>-6</sup> Br <sup>-</sup> : 2 10 <sup>-4</sup> CN <sup>-</sup> : 0.4 S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup> : 1 10 <sup>-5</sup> S <sub>2</sub> <sup>-</sup> ed agenti riducenti devono essere assenti
K <sup>+</sup>	solido organico	1 10 <sup>-7</sup> fino 1	0 fino 14	< 500	Cs <sup>+</sup> : 0.5 Rb <sup>+</sup> : 2 NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> : 0.01 Ag <sup>+</sup> : 0.002 Na <sup>+</sup> : 2 10 <sup>-4</sup>
K <sup>+</sup>	liquido organico	1 10 <sup>-5</sup> fino 1	2 fino 11	< 100	Cs <sup>+</sup> : 20 Rb <sup>+</sup> : 10 NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> : 0.02 Na <sup>+</sup> : 0.012
Ag <sup>+</sup> S <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Ag <sub>2</sub> S (cristallino)	1 10 <sup>-7</sup> fino 1	0 fino 14	< 10	no interferenti sostanziali

# Elettrodi a membrana iono-selettiva

---

## Vantaggi offerti dagli elettrodi a membrana ionoselettiva

- Semplici da usare e poco costosi
- Funzionano in un **ampio range di attività**
- Possono fornire misure rapide (specialmente in condizioni di soluzioni acquose diluite)
- Particolarmente utili in applicazioni bio in quanto misurano **l'attività ionica**
- Possono misurare l'attività sia di ioni positivi che negativi
- Il loro funzionamento non è alterato dalle proprietà ottiche del fluido in esame (essenziale in ambito biomedico)
- Possono funzionare in un **ampio range di temperature** (0-80 °C per gli elettrodi a membrana cristallina, 0-50°C per quelli a membrana polimerica)
- Misure non distruttive (in quanto **non consumano l'analita**)

# Elettrodi a membrana iono-selettiva

---

## Principali limitazioni degli elettrodi a membrana ionoselettiva

- Precisione spesso non elevatissime (qualche % di differenza rispetto al potenziale calcolato con l'equazione di Nernst)
- Le membrane possono essere soggette ad **inquinamento** dovuto alla presenza di proteine o altri composti organici presenti in soluzione
- Sono soggetti ad **interferenze** dovute alla presenza di altre specie ioniche
- Spesso **fragili** (basta pensare agli elettrodi a vetro...) e il loro funzionamento è garantito per un lasso di tempo ristretto (specialmente quelli con membrane polimeriche drogate con ionofori)
- **Sensibili solo a ioni liberi** (cioè non legati a qualche complesso)