



Biosensori

Sensori Chimici

nicola.carbonaro@centropiaggio.unipi.it

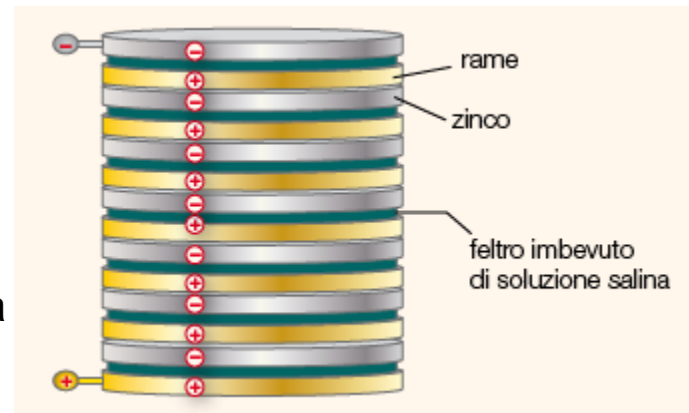
Principali applicazioni dei Sensori chimici

- 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

Brevi Cenni

- La relazione tra una trasformazione chimica e un movimento di elettroni suggerisce la possibilità di utilizzare questo tipo di reazioni per produrre una corrente elettrica.
- Questa semplice intuizione, alla fine del 1700, permise allo scienziato italiano Alessandro Volta, che pur ignorava la struttura dell'atomo, di costruire il primo apparecchio capace di produrre artificialmente una corrente elettrica, la pila elettrica.

La pila di Volta è costituita da una colonna di elementi simili, detti elementi voltaici, “impilati” appunto uno sopra l’altro. Ogni elemento è formato da un disco di rame e uno di zinco e i diversi elementi sono separati tra loro da un disco di cartone o feltro imbevuto di acqua salata o acidulata (in pratica una soluzione elettrolitica).



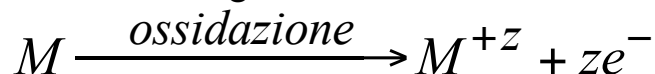
Principi Elettrochimici

- Le trasformazioni chimiche mettono in gioco sostanze ma anche energie che si convertono in altre forme nel corso delle reazioni.
- Le reazioni esotermiche, come le combustioni, trasformano energia chimica in energia termica mentre in quelle endotermiche l'energia termica viene assorbita per essere trasformata in energia chimica. Reazioni come la combustione si realizzano con un trasferimento di elettroni da un reagente all'altro e, con esso, un trasferimento di energia. Tutte le reazioni in cui si verifica il passaggio di elettroni da una specie (riducente) all'altra (ossidante) sono dette di ossido-riduzione o, semplicemente, redox.

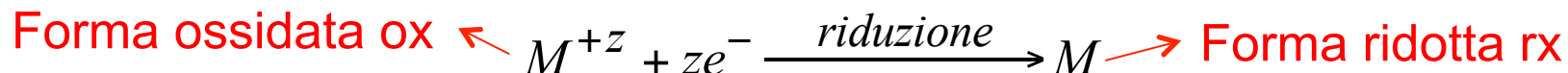
Semicella Elettrochimica

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

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



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

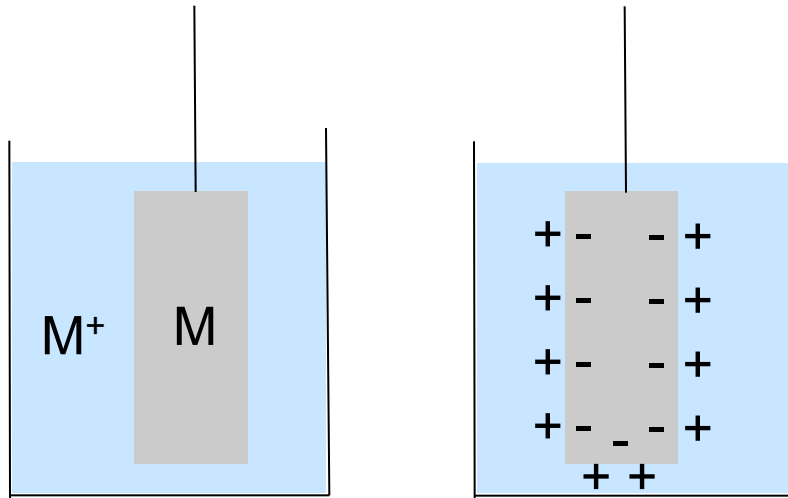


- Si raggiunge (velocemente) una condizione di equilibrio dove la velocità con cui metallo perde cationi che passano in soluzione è uguale a quella con cui gli ioni del metallo in soluzione si depositano sull'elettrodo (legandosi alle cariche elettriche negative accumulate sulla superficie del metallo).



Semicella Elettrochimica

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



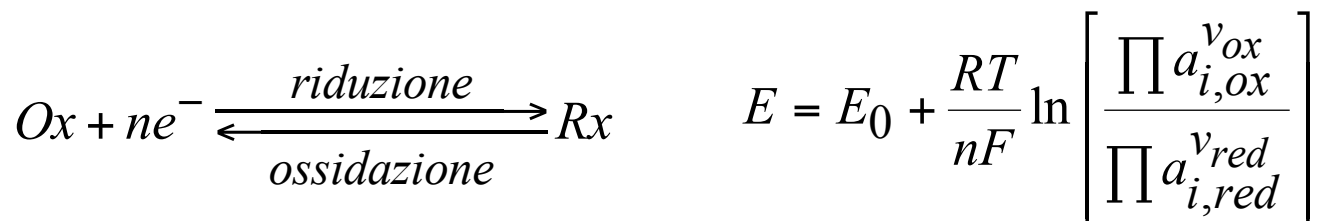
Un sistema di questo genere è detto **semicella** o **elettrodo** e la d.d.p. (differenza di potenziale) all'**interfaccia metallo-soluzione** viene detta semplicemente potenziale di elettrodo o potenziale di semicella.

Doppio strato

Semicella Elettrochimica

▪ 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 $96485,309 \text{ C mol}^{-1}$.

Ossidazione: descrive la perdita di elettroni da una molecola, atomo o ione e quindi aumenta il suo numero di ossidazione.

Riduzione: descrive l'acquisizione di elettroni da una molecola, atomo o ione e quindi diminuisce il suo numero di ossidazione.

← Redox

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.
 - 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.

L'equazione di Nernst permette di risalire al potenziale di elettrodo in condizioni non standard.

**Per misurare il potenziale di 1/2 cella si usa un elettrodo di riferimento (classicamente di idrogeno) con potenziale nullo per convenzione
Potenziali standard sono tabulati relativamente all'elettrodo di riferimento**

Principi di elettrochimica

L'equazione di Nernst dipende dall'attività (concentrazione) delle specie chimiche.

La misura del potenziale può essere utilizzata per risalire a concentrazioni di interesse (**metodi potenziometrici**).

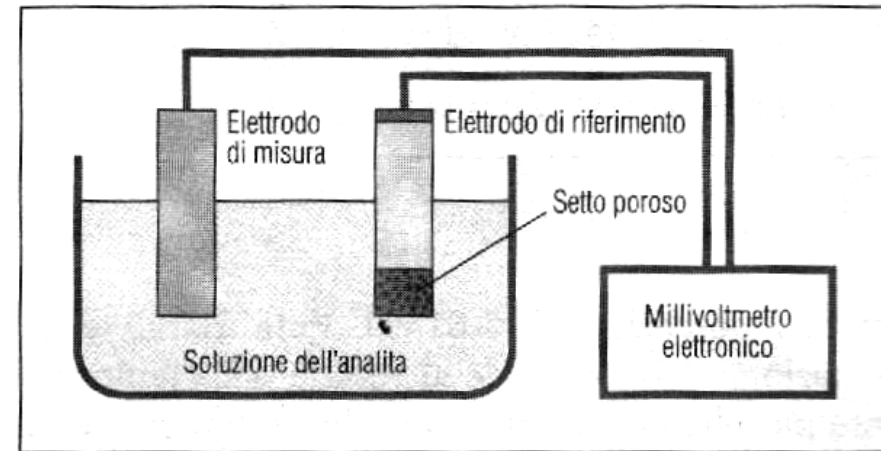
Potenziali normali di riduzione a 25° C

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

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

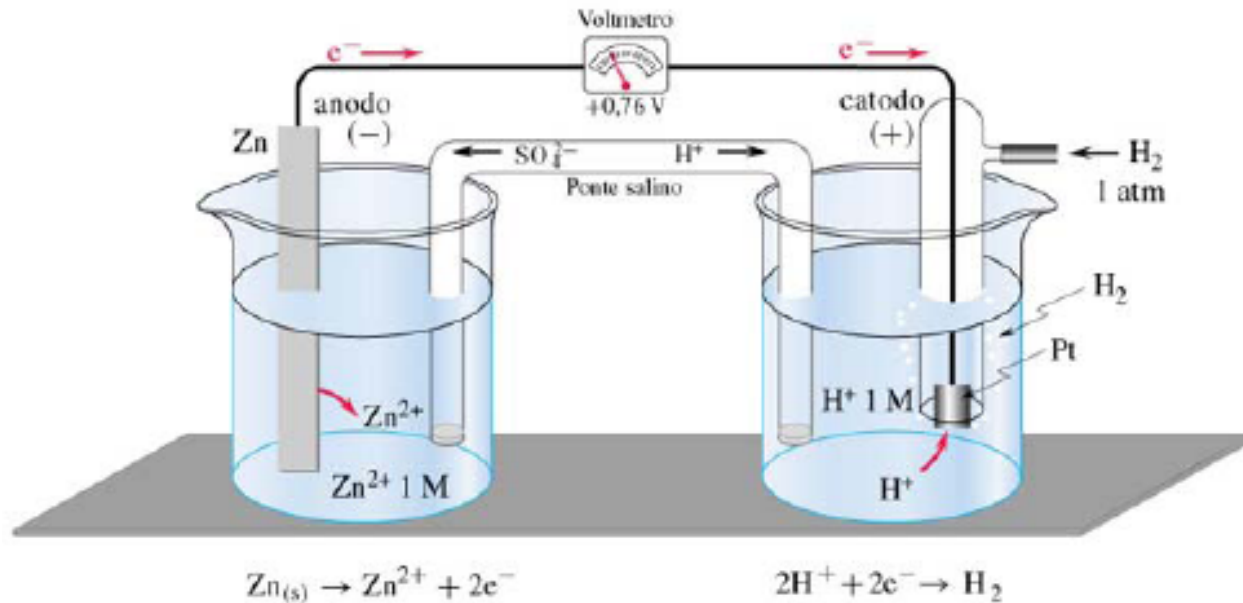
Metodi potenziometrici

- 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 o di seguire l'andamento di una titolazione.**
- 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.



Cella elettrochimica

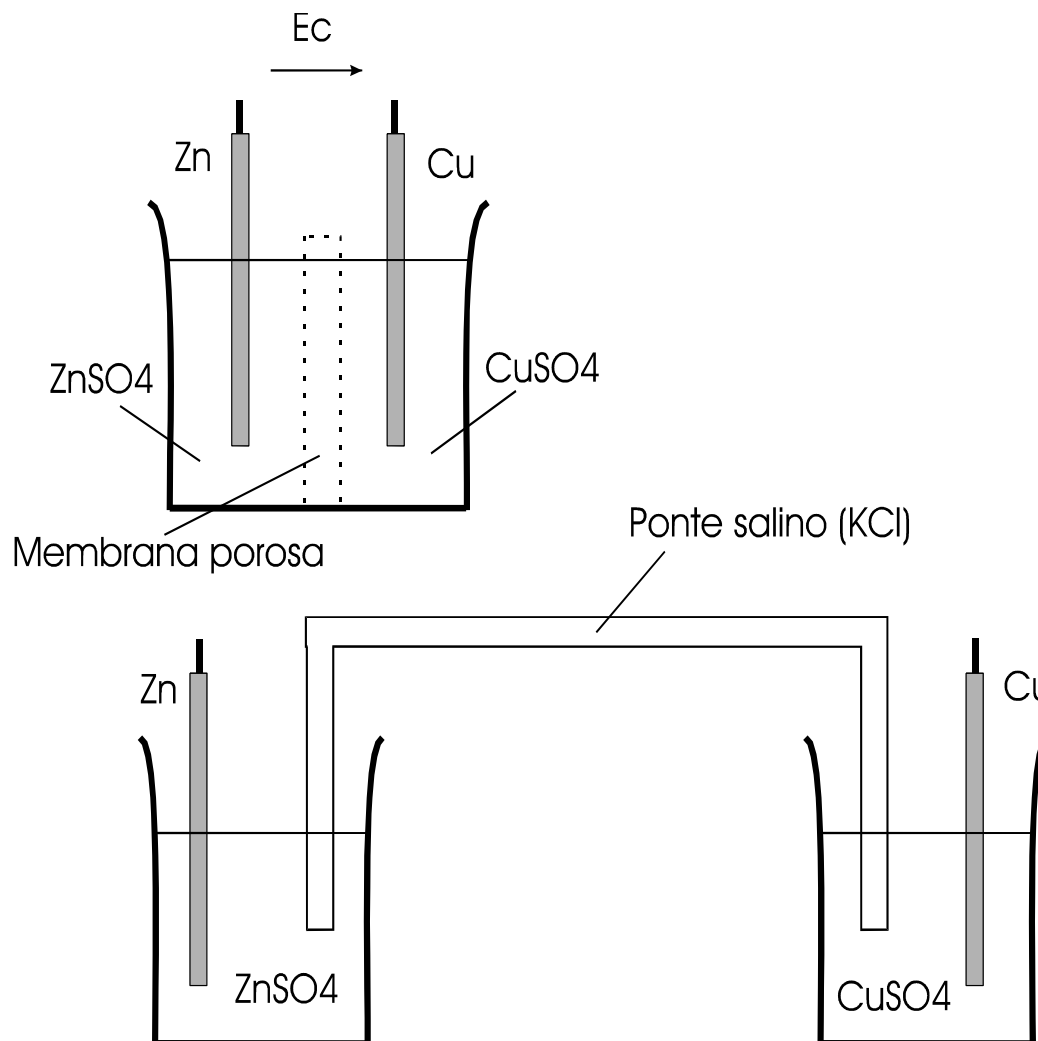
- Una cella elettrochimica è formata da due semicelle formate da due elettrodi immersi in soluzioni che sono poste in contatto tra loro tramite un setto poroso o un ponte salino (garantisce la continuità elettrica ma non permette agli ioni di passare).



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 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.

Esempio: cella di Daniel con e senza ponte salino



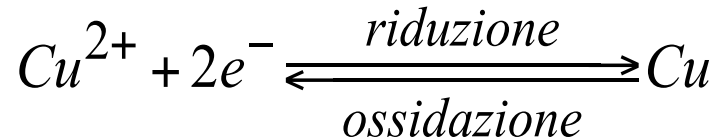
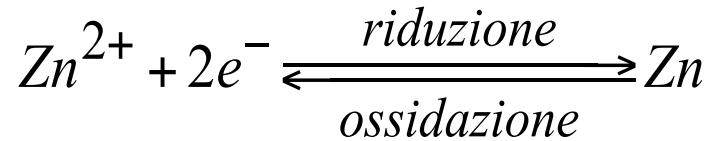
Cella di Daniell

- Una pila dove si verifica un processo in base al quale i cationi rameici si legano spontaneamente all'elettrodo di destra, che in questo modo si polarizza positivamente, e gli ioni zinco si staccano spontaneamente dall'elettrodo di sinistra che si polarizza negativamente, è possibile misurare (strumento di misura voltmetro) una differenza di potenziale che a circuito aperto, viene detta anche forza elettromotrice (f.e.m.).
- Quando si chiude il circuito si genera una corrente di elettroni che va dall'elettrodo di sinistra a quello di destra e in soluzione una corrente di anioni che si muove dalla semicella di destra a quella di sinistra e una corrente di cationi che si muove in senso inverso. Con il procedere della reazione elettrochimica la concentrazione della soluzione rameica diminuisce, quella della soluzione di zinco aumenta mentre la differenza di potenziale diminuisce e tende a zero.
- La forza elettromotrice è data da:

$$\gg \Delta E = E_c - E_a$$

– dove E_c e E_a indicano i potenziali del catodo e dell'anodo

Esempio: Cella di Daniel con e senza ponte salino



Dai tabulati sulle tensioni di riduzione standard

$$E = \left[E^0_{\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}} + \frac{RT}{2F} \ln \left(a_{\text{Cu}^{2+}} \right) \right] - \left[E^0_{\text{Zn}^{2+}/\text{Zn}} + \frac{RT}{2F} \ln \left(a_{\text{Zn}^{2+}} \right) \right] =$$

$$E^0_{\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}} - E^0_{\text{Zn}^{2+}/\text{Zn}} - \frac{RT}{2F} \ln \left(\frac{a_{\text{Zn}^{2+}}}{a_{\text{Cu}^{2+}}} \right) = 1.100 - \frac{RT}{2F} \ln \left(\frac{a_{\text{Zn}^{2+}}}{a_{\text{Cu}^{2+}}} \right)$$

Elettrodi di riferimento

La misurazione elettrochimica dell'attività ionica fa uso principalmente 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).

Le qualità che vengono richieste agli elettrodi di riferimento sono:

1. **reversibilità**
2. **riproducibilità**
3. **stabilità**

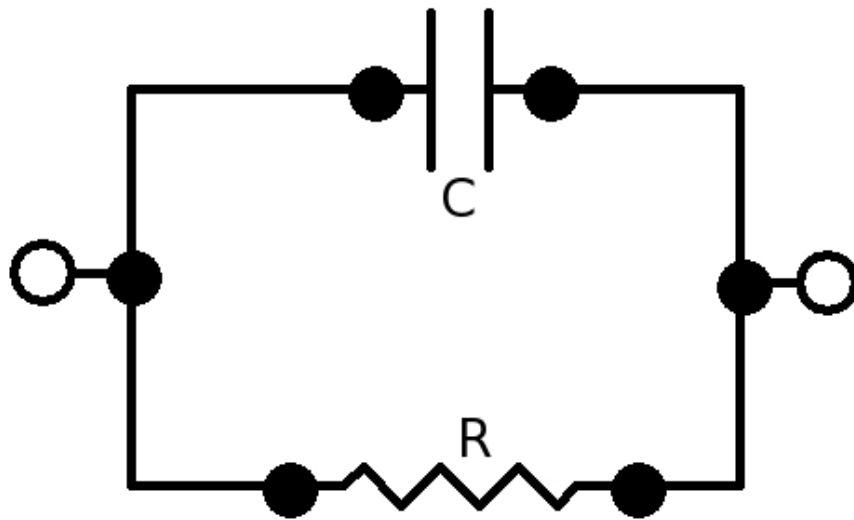
Il grado di **reversibilità** peggiora all'aumentare della densità di corrente che attraversa la superficie dell'elettrodo (danneggiamento dell'elettrodo per over-voltage).

Riproducibilità: elettrodi con proprietà elettrochimiche simili, capacità di rispondere a variazioni di concentrazione e di temperatura senza isteresi (processo di fabbricazione).

La stabilità: proprietà di un elettrodo invariate nel corso di una misurazione di lunga durata. In queste condizioni, la maggior parte degli elettrodi subisce un **“avvelenamento”** Possibile via d'uscita : Accoppiare l'elettrodo alla soluzione mediante un ponte salino che previene l'inquinamento dell'elettrodo.

Elettrodi di riferimento

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 (attività ionica nota, temperatura)



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

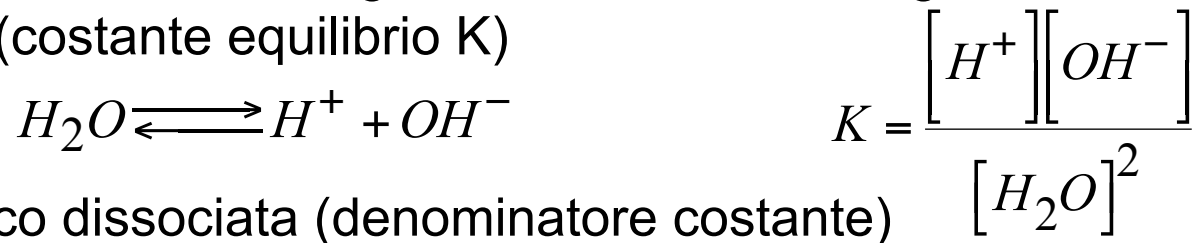
- Elettrodi metallo/ossido metallo
- Elettrodi a vetro

Misure di Ioni in Soluzione

- Misure di Sodio e Potassio
- Elettrodi a membrana
- Elettrodi ionoselettivi in Medicina
- 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 l'attività degli ioni H^+ e OH^- sono uguali, reazione di equilibrio (costante equilibrio K)



- Acqua poco dissociata (denominatore costante)

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

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

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

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

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.

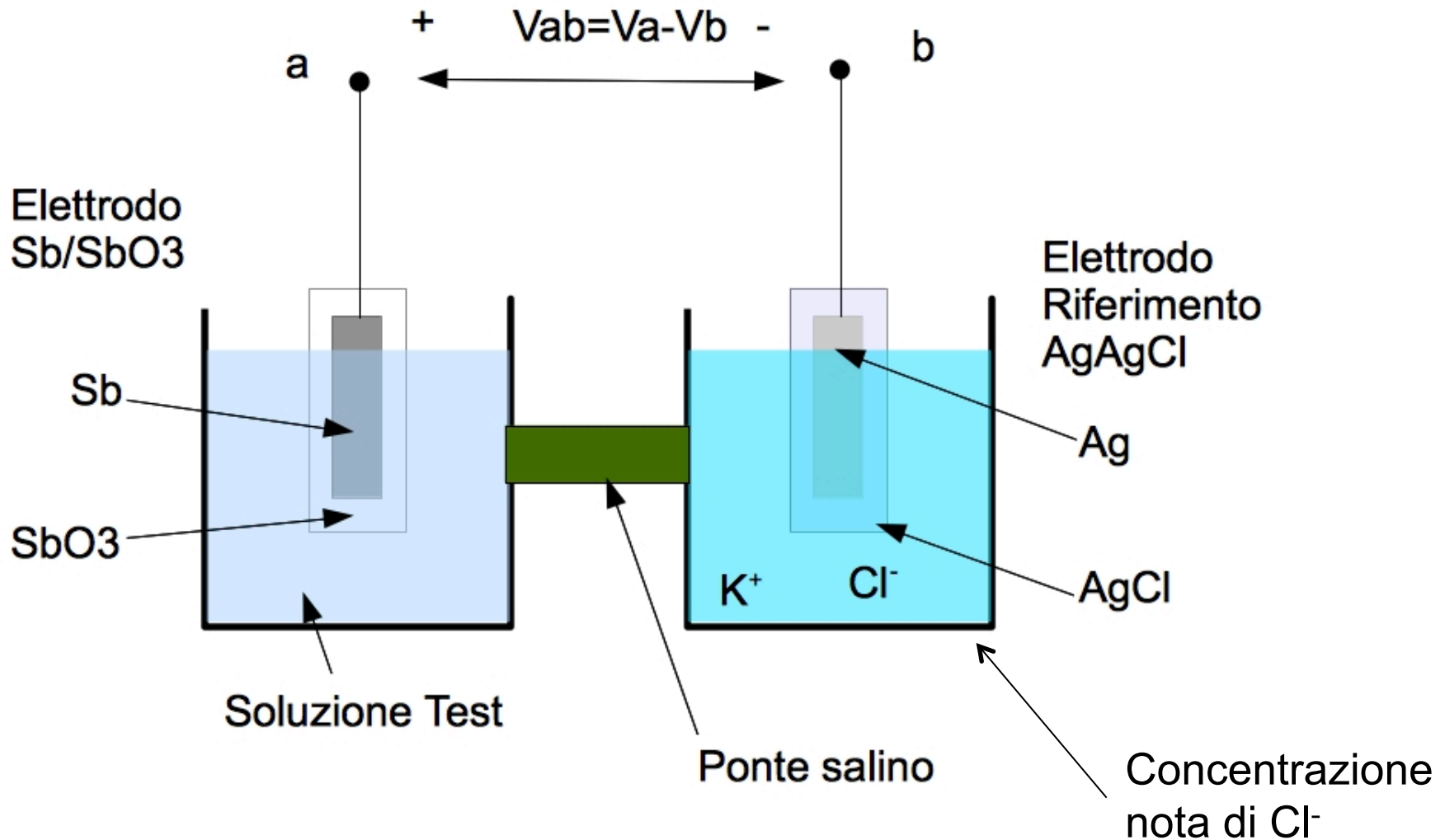
I meccanismi grazie ai quali l'organismo riesce a bilanciare eventuali squilibri sono essenzialmente tre:

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);

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



Elettrodo metallo/ossido metallo

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

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

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

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

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

Questo potenziale di semicella va misurato
Rispetto a un elettrodo di riferimento