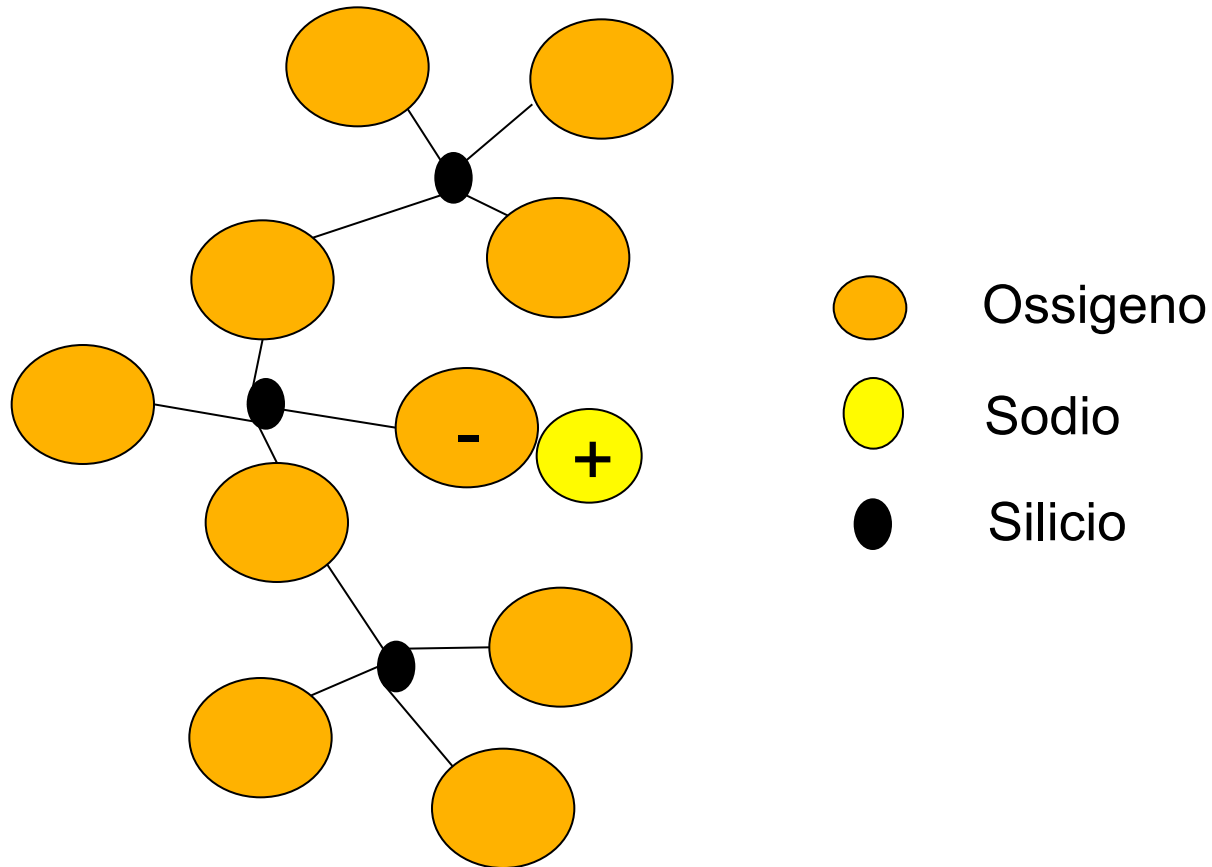


# Elettrodi a vetro

- 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 che permette la conduzione ionica

# 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.

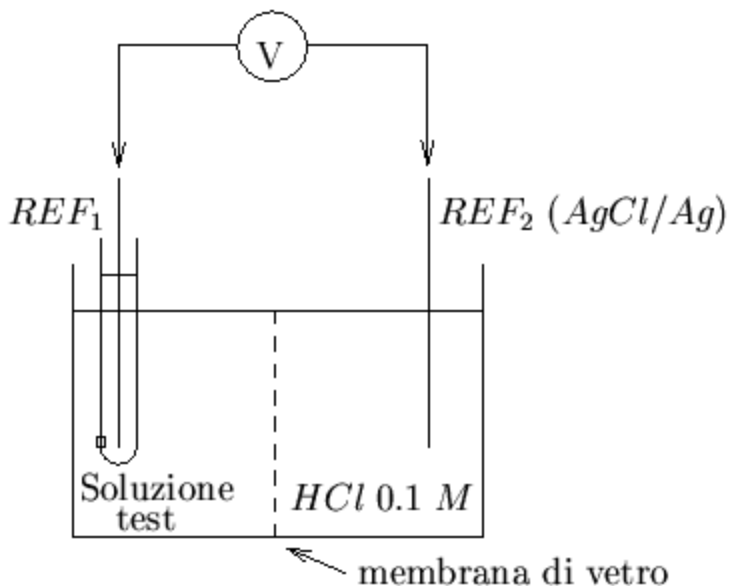
La debolezza di questo legame metallico e l'esistenza di siti interstiziali forniscono agli atomi metallici un certo grado di mobilità.

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 ( $Na^+$ ,  $Li^+$  etc). Schematizzabile come:

**Elettrodo vetro || Soluzione di test || Elettrodo di riferimento**

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

La barriera diffusiva che impedisce (vetro) o rallenta (ponte salino) il mescolarsi delle soluzioni

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

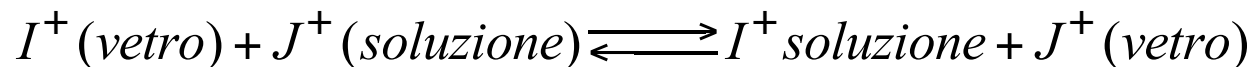
# Elettrodo a vetro

- Il vetro è progettato in modo tale da garantire mobilità agli ioni  $\text{Na}^+$
- Gli ioni  $\text{Na}^+$  diffondono dal vetro nella soluzione mentre gli  $\text{H}^+$  della soluzione diffondono nel vetro
- Gli ioni  $\text{H}^+$  non attraversano la membrana che viene attraversata solo dagli ioni  $\text{Na}^+$ . 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:

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

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 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  $\mu^*$  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:

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

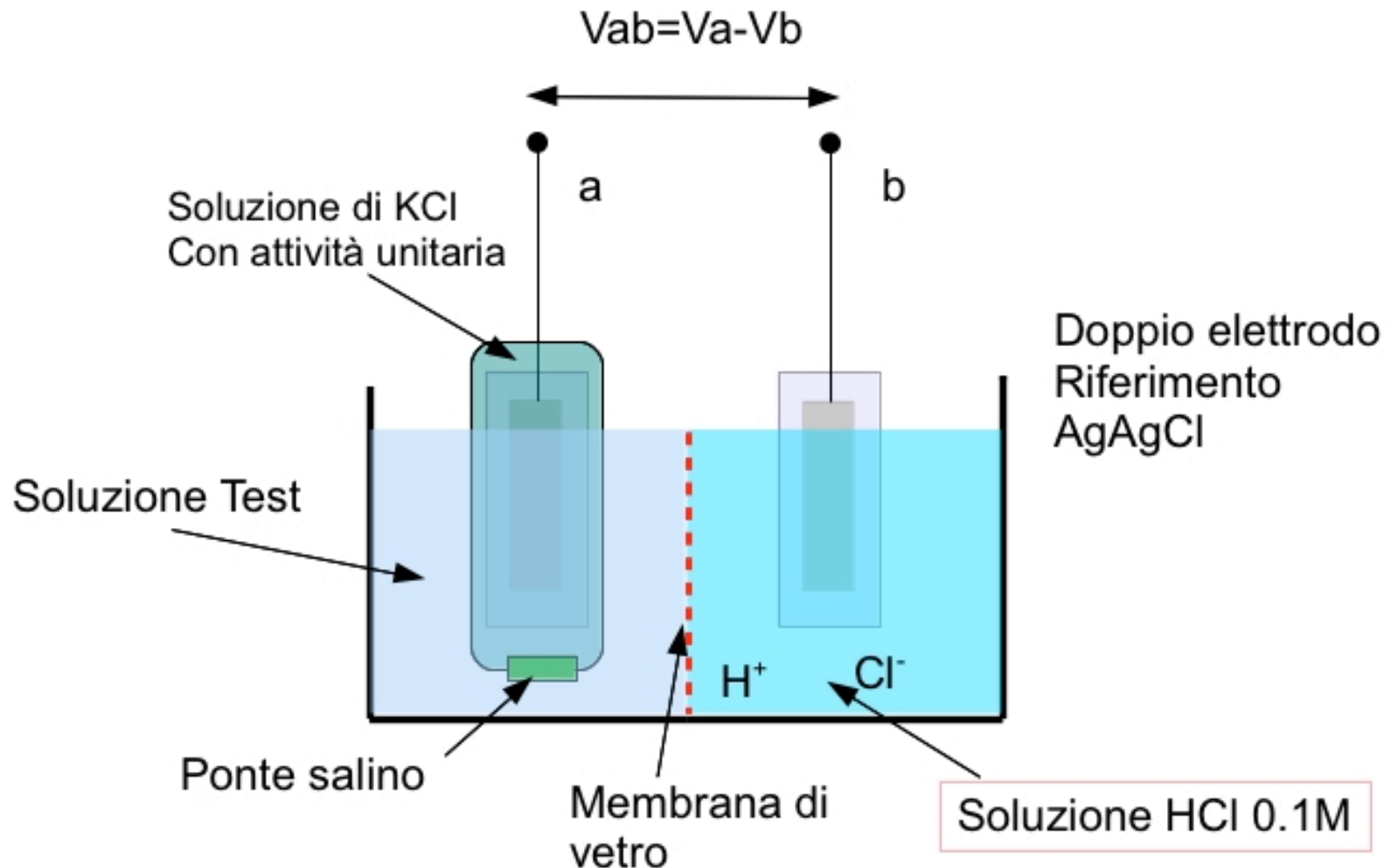
Quindi, quanto più piccolo sarà  $K_{H^+/Na^+} \cdot a_{Na^+}$

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 membrana deve soddisfare le seguenti esigenze:
  - resistenza elettrica non troppo alta;
  - 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.
- Dal punto di vista esterno macroscopico noi descriviamo l'efficienza della membrana di vetro in termini di numero di trasporto di  $H^+$

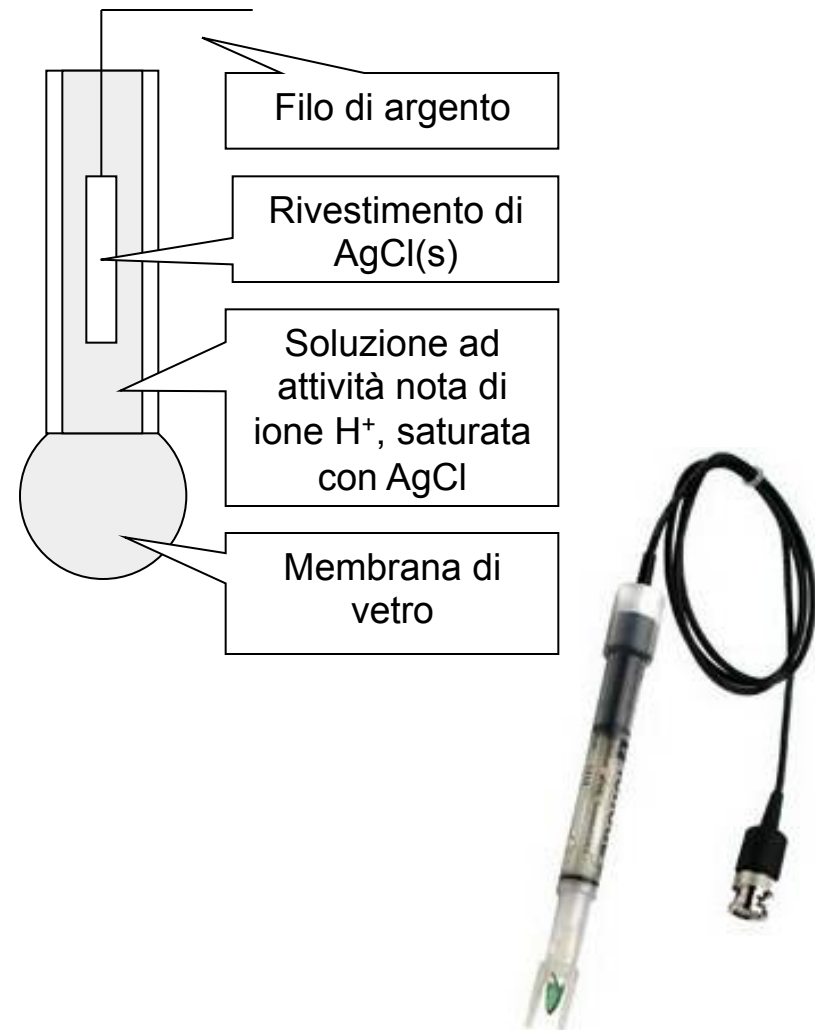
# Esempio: schematizzazione dello strumento per la misura del pH tramite elettrodo a vetro



# Esempio: rappresentazione reale dello strumento per la misura del pH tramite elettrodo a vetro

L'**elettrodo a vetro** per la misura del pH rappresenta l'elettrodo ionoselettivo di più vasto impiego.

Esso consiste in una sottile membrana di **vetro speciale**, che è l'elemento dell'elettrodo effettivamente sensibile al pH, saldata all'estremità di un tubo resistente in plastica o vetro. Nel tubo è contenuta una soluzione con attività nota e costante di ione  $H^+$  (una soluzione diluita di HCl oppure un tampone) saturata con AgCl. Un filo di argento rivestito di AgCl immerso nella soluzione forma un elettrodo di riferimento ad Ag/AgCl, che viene utilizzato per collegare l'elettrodo ad uno dei terminali del potenziometro.

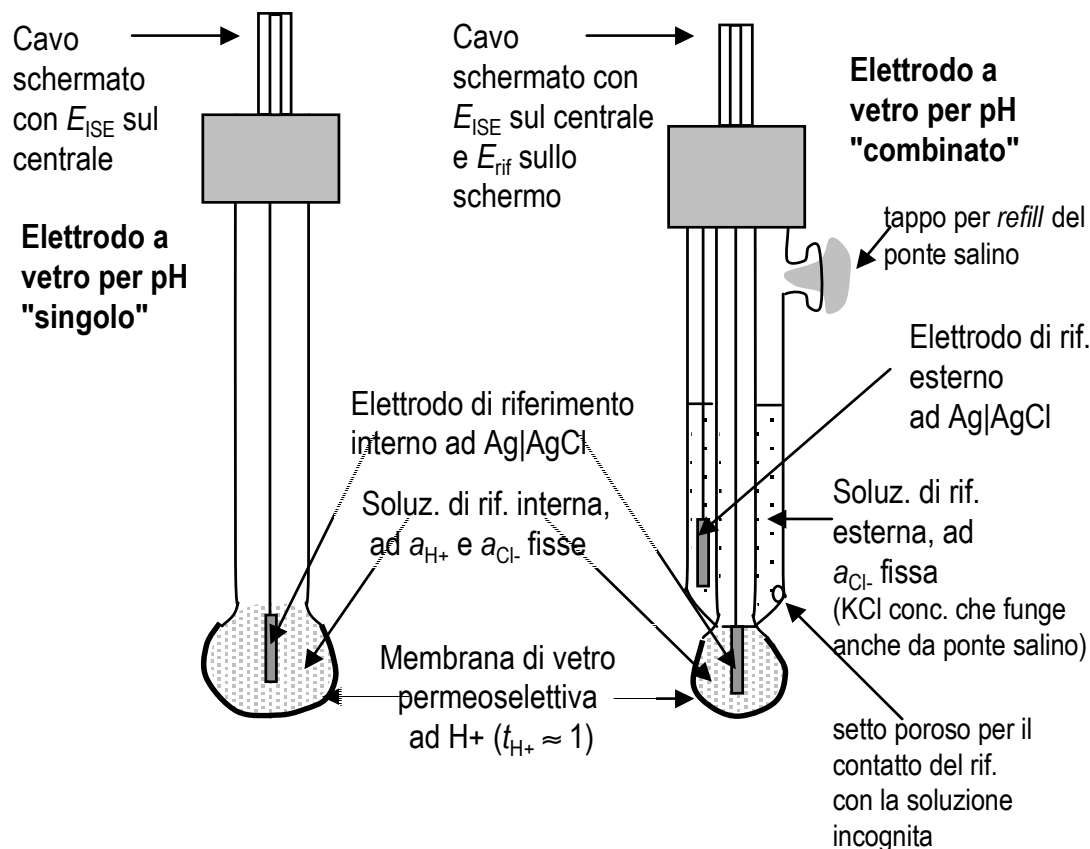


# Esempi di elettrodi a vetro reali

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:

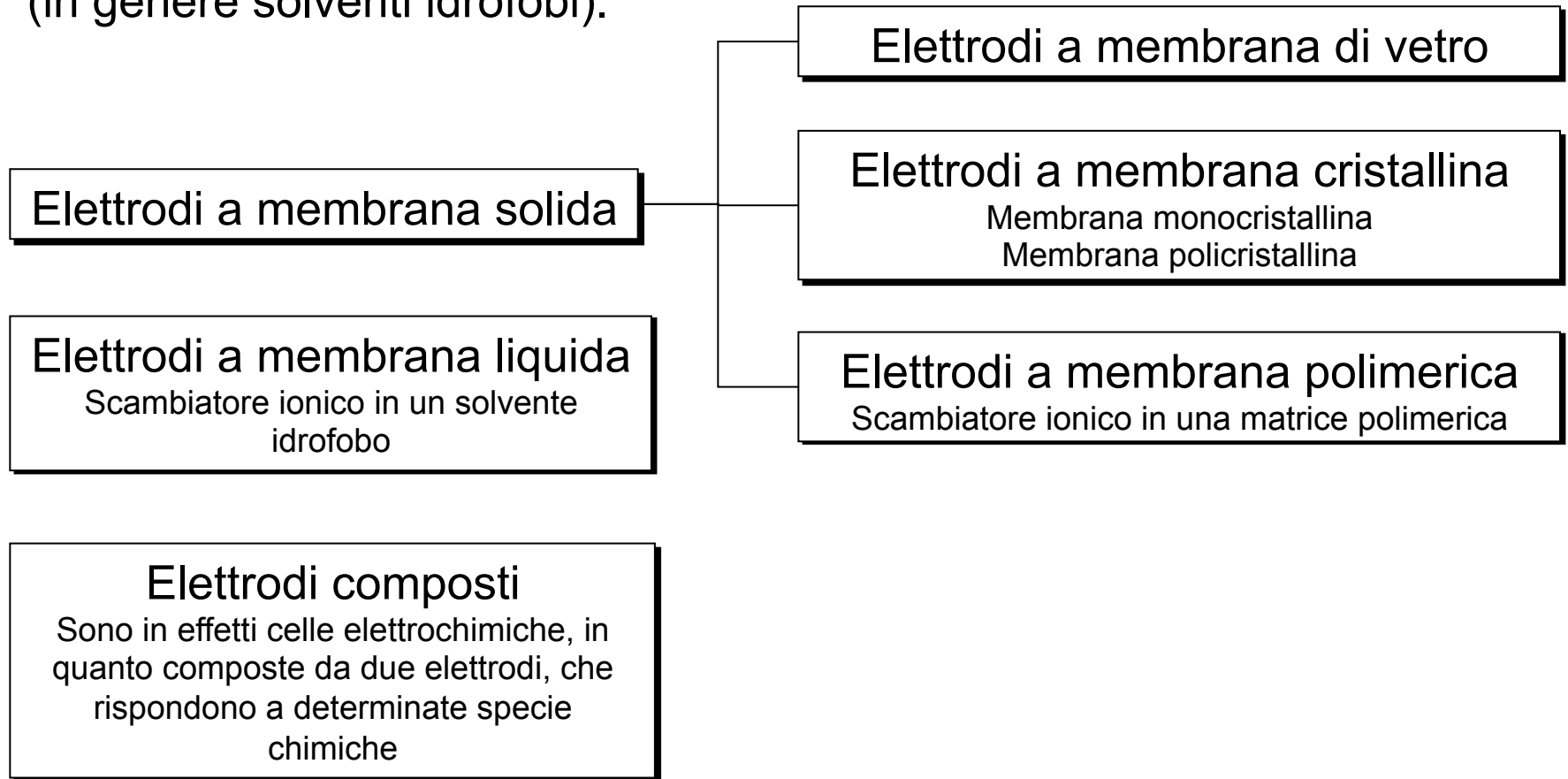
$$E = E^0 + \frac{RT}{F} \ln(a_{K^+} + 10a_{Na^+})$$

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 costituiti 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 <sup>-6</sup> fino 1	0 fino 14	<10	Cl <sup>-</sup> : 2.5 10 <sup>-3</sup> I <sup>-</sup> : 5 10 <sup>3</sup> CN <sup>-</sup> : 1.2 10 <sup>4</sup> OH <sup>-</sup> : 3 10 <sup>-5</sup> NH <sub>3</sub> : 0.5
Ca <sup>++</sup>	liquido organico	1 10 <sup>-5</sup> fino 1	pCa<pH<10	<500	Ba <sup>++</sup> , Sr <sup>++</sup> ; Ni <sup>++</sup> , Mg <sup>++</sup> : 1 10 <sup>-2</sup> Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> : 1 10 <sup>-3</sup>
Cl <sup>-</sup>	AgCl (poli-cristallino)	5 10 <sup>-5</sup> fino 1	0<pHz<13 pCl	<10	Br <sup>-</sup> : 300 I <sup>-</sup> : 2 10 <sup>6</sup> CN <sup>-</sup> : 5 10 <sup>6</sup> OH <sup>-</sup> : 0.012 NH <sub>3</sub> : 8 S <sub>2</sub> -deve essere assente
Cu <sup>++</sup>	CuS-Ag <sub>2</sub> S (miscela)	1 10 <sup>-5</sup> fino 1	0 fino 14	<1	Ag e Hg sono veleni e devono essere assenti: alti livelli di Cl <sup>-</sup> e Br <sup>-</sup> complessano soluzioni di Cu <sup>2+</sup> ; Fe <sup>3+</sup> : 10
F <sup>-</sup>	LaF <sub>3</sub> (cristallo singolo)	1 10 <sup>-6</sup> fino 1	0<pH<12 pF	<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> - 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> o 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

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:

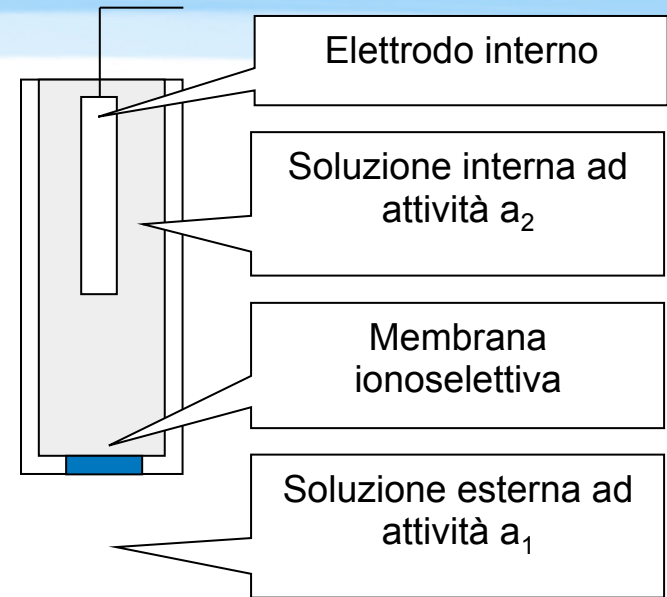
$$E = \frac{RT}{zF} \ln \left( \frac{a_1}{a_2} \right)$$

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<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, H<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> 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.

Qual è la grandezza più significativa dal punto di vista clinico? La concentrazione o l'attività? La risposta non è unica, dipende dalle circostanze.

1. Per stimare la quantità di una sostanza presente nel corpo e la diminuzione attraverso la perdita urinaria, è più conveniente una misura della concentrazione totale, grandezza fornita dai fotometri.
2. Al contrario, le membrane biologiche del cervello, del sistema nervoso periferico, del cuore e le cellule ghiandolari agiscono come elettrodi ionoselettivi: potenziali di membrana dipendenti dalle attività ioniche delle sostanze nei dintorni del sito di misura.
3. Ioni oggetto della misura. Mentre la relazione tra concentrazione e attività negli ioni sodio e potassio è prevedibile, ciò non può assolutamente dirsi per il calcio: non esistono studi a questo proposito sul sangue intero, quindi un elettrodo per la rilevazione del calcio darebbe un'informazione di grande significato biologico e chimico, altrimenti indisponibile.
4. Alta velocità di misura (eccezion fatta per l'elettrodo per il calcio, in cui convenienza e rapidità sarebbero qualcosa di non assolutamente indispensabile, vista la sua importanza), va ricordato che ci sono situazioni cliniche in cui è necessario effettuare misurazioni veloci e frequenti di potassio.
5. Nel caso di misure multiple, sodio, potassio e urea, da misurare contemporaneamente in determinati intervalli di tempo. Solo il potassio può subire variazioni forti e improvvise (diabetici gravi, unità di terapia intensiva, post interventi chirurgici o occlusione coronarica). Proprio il potassio, quindi, potrebbe essere misurato con un elettrodo, visto che spesso è preferibile un monitoraggio veloce e sicuro sul posto, indipendentemente da altri elettroliti, ma congiuntamente a misurazioni di gas o di equilibrio acido-base.

# Elettrodo per la misurazione del potassio nel sangue

- Membrana selettiva al potassio
- costituita prevalentemente da PVC in combinazione con valinomicina e tetrafenilborato di potassio. Il tubo che contiene la semicella è anch'esso in PVC e ha un diametro esterno di pochi millimetri. L'elettrodo di riferimento interno è di tipo Ag/AgCl e la soluzione interna è KCl in concentrazione 4 mM. Il circuito viene chiuso collegando il capillare ad un ponte saturo di KCl ed ad un elettrodo di riferimento a calomelano. La maggior parte degli elettrodi forniscono una risposta iniziale pari al 97 - 99% di quella teorica prevista dall'equazione di Nernst. Se conservato in ambienti asciutti, la capacità di risposta viene mantenuta per almeno 18 mesi. Con l'uso, però, lo scambiatore ionico fuoriesce dalla membrana e la risposta degenera dopo pochi mesi.

# Elettrodi per la misurazione del calcio

Nati intorno agli anni '70 e non erano di facile impiego, tanto che il loro uso è rimasto limitato a gruppi di ricerca ed ospedali universitari.

Lo Space-Stat 20 della Orion Bio-Medical (Cambridge, Massachusetts.) impiega un sistema di flusso automatico.

L'elettrodo di riferimento è costituito da una pallina di AgCl attraverso la quale viene fatta passare una soluzione di riferimento di KCl saturata con ioni  $\text{Ag}^+$ . L'accuratezza relativa assicurata dai costruttori è di  $\pm 0,02$  meq/l.

Tale precisione è necessaria, visto che le variazioni normali dello ione calcio danno luogo a cambi di potenziale intorno ai 3 mV (equivalenti a 0,05 unità di pH).

Misurazione dell'attività degli ioni calcio: non esistono veri e propri standard in base ai quali giudicare la sensibilità di un elettrodo

Il problema si riconduce a quello di distinguere tra "avvelenamento" di un elettrodo e riduzione dell'attività dello ione calcio dovuta ad interazioni con altri ioni.

L'elettrodo di calcio non è diffuso negli ambienti clinici, né è in uno stadio di sviluppo tale da permetterne l'uso nelle attività di monitoraggio.

La misura dell'attività dello ione calcio non è stata disponibile in precedenza, quindi anche il suo significato sarebbe di difficile interpretazione.