



Modulo Biosensori

Sensori Chimici

Sensori conduttimetrici e capacitivi

Misurano le **variazioni di conduttività** di una soluzione in presenza di una determinata concentrazione di soluto.

Impedenza (**Z**) di tipo capacitivo dovuta alla *polarizzazione degli elettrodi* e agli *strati di cariche* che vengono a formarsi in prossimità della superficie metallica.

$$G \text{ (Ohm}^{-1}\text{)} = \sigma A / L$$

in cui σ (Ohm⁻¹/cm⁻¹) è la conduttività dell'elettrolita, è legata alla concentrazione e alla natura degli ioni.

Nella pratica, **A** è la superficie degli elettrodi ed **L** la loro distanza.

$$G(\text{elettrol. forte}) \propto \sqrt{[C_{\text{elettrol. forte}}]}$$

Sensori conduttimetrici e capacitivi

- Misura di conducibilità
 - Applicare una tensione/misurare una corrente (o viceversa)
 - Problematiche legate polarizzazione (passaggio di corrente) dell'elettrodo
 - Processi Faradici
 - Diffusione
 - Possibilmente la misura viene fatta quando i processi Faradici non sono attivi
 - Imponendo una tensione opportuna
 - Capacità di doppio strato
 - Impedenza di Warburg che rende difficile l'interpretazione della misura

Sensori potenziometrici, voltammetrici e amperometrici

I sensori **potenziometrici** = Relazione tra concentrazione e potenziale di cella.

La misura potenziometrica = Determinazione del potenziale fra elettrodo di riferimento ed elettrodo di misura con un voltmetro.

La relazione tra corrente e tensione in una cella elettrochimica fornisce la base per i sensori voltammetrici ed amperometrici.

Nei sensori **amperometrici** viene imposta alla soluzione una differenza di potenziale mantenuta costante e viene letta la corrente risultante da eventuali reazioni di ossidazione o riduzione agli elettrodi.

Nei sensori **voltammetrici**, invece, si impiegano tensioni variabili nel tempo (voltammetria lineare o ciclica) e la corrente risultante presenta caratteristiche che dipendono anche dal modo in cui la tensione è stata fatta variare.

In generale, i sensori voltammetrici analizzano gli effetti della concentrazione delle specie da monitorare sulle caratteristiche corrente-tensione delle reazioni di ossidoriduzione coinvolte.

Trasferimento di massa in prossimità dell'elettrodo può essere dovuto a:

- **migrazione ionica** risultante da **gradienti di potenziale elettrico**,
- **diffusione** derivante da **gradienti di potenziale chimico**,
- **convezione naturale o forzata**.

Una condizione di trasferimento di massa = **Diffusione**
legge di diffusione di **Fick**.

La corrente nella cella (*dovuta alla velocità del processo faradaico sulla superficie dell'elettrodo*) cresce con il potenziale imposto sugli elettrodi.

Quando il processo di Faraday raggiunge la massima velocità, la corrente si avvicina ad un valore limite: in questa circostanza la concentrazione della specie sotto esame viene considerata zero sulla superficie dell'elettrodo.

Quando, invece, la cinetica dell'elettrodo è molto lenta rispetto al trasferimento di massa, si registra un piccolo **sovrapotenziale**.

Entrambe le equazioni mostrano una relazione lineare tra corrente limite e concentrazione della specie da osservare.

Le modalità della misura voltammetrica

- La voltammetria in modalità lineare
- La voltammetria ciclica

La voltammetria in modalità lineare:

il potenziale varia linearmente da un valore ad un altro (finestra di potenziale). La curva mostra dei picchi in corrispondenza dei potenziali a cui avvengono delle reazioni di ossidazione o riduzione.

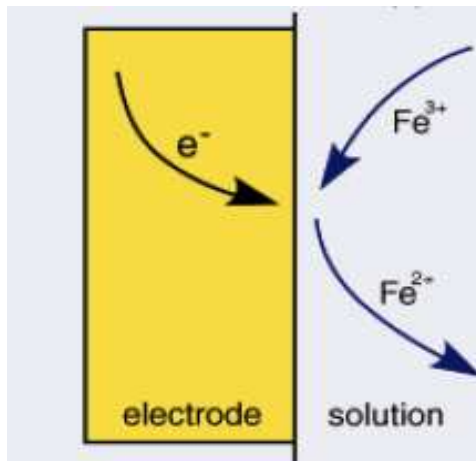
La voltammetria ciclica:

il potenziale passa ciclicamente dal valore superiore a quello inferiore ad una velocità costante ben definita. I picchi segnalano le reazioni di ossidazione e di riduzione. Dall'ampiezza dei picchi è possibile risalire alla concentrazione dei reagenti, sempre che non vengano attivati altri fenomeni.

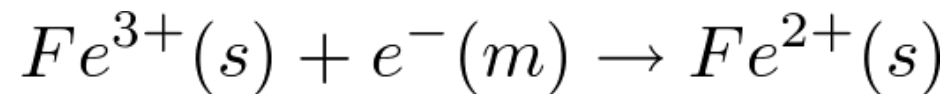
I sensori amperometrici e voltammetrici rispondono bene all'analisi qualitativa e quantitativa di specie chimiche e biochimiche, Rimane problematico l'impiego in mezzi di interesse clinico come **sangue** o in altri **fluidi biologici**.

Reazioni di elettrodo

- Tipica reazione di elettrodo (Elettrolisi)
 - Il reagente (O) si muove verso l'interfaccia (**trasferimento di massa**)
 - Trasferimento di elettroni (tunnelling) tra elettrodo e il reagente vicino all'elettrodo
 - Tipica distanza di per il tunnelling < 2nm
 - Il prodotto (R) si allontana dall'elettrodo permettendo l'arrivo di nuovo reagente



Esempio

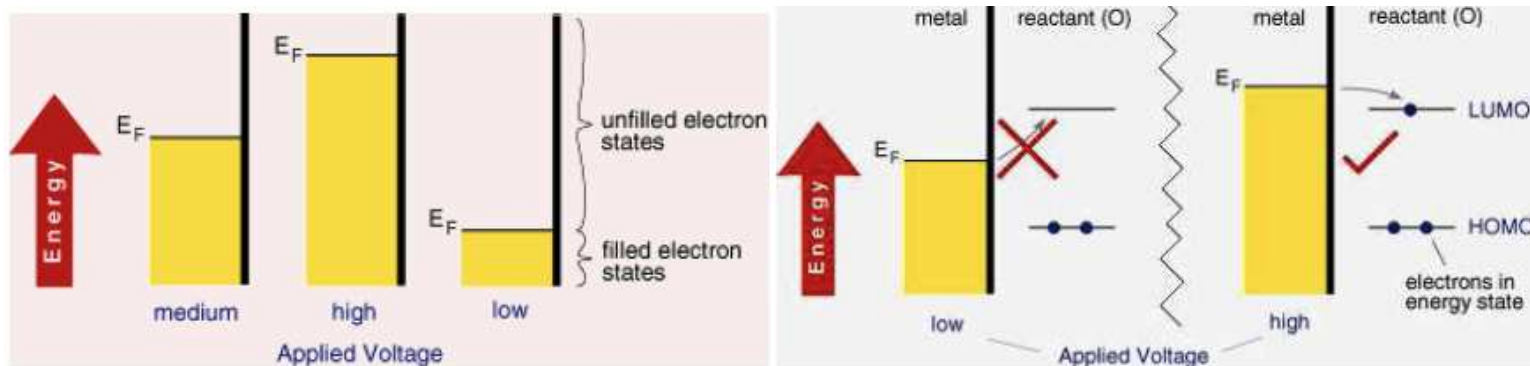


Trasferimento di elettroni e livelli energetici

- La reazione di elettrodo è guidata dall'applicazione di una tensione
 - $V = \text{Joule/Coulomb} \rightarrow$ Energia richiesta per muovere la carica
 - Gli elettroni hanno una carica elettrica e l'applicazione di una tensione altera l'energia degli elettroni nel conduttore (elettrodo)
- Il comportamento degli elettroni può essere descritto considerando i **livelli di Fermi**
 - Gli elettroni nei metalli non hanno livelli energetici discreti e ben definiti. Gli stati energetici sono continui e riempiti dal più basso al più alto. Il livello di Fermi (**E_f**) rappresenta il più alto livello energetico degli elettroni del metallo.
 - E_f Non è fisso ma può essere alterato applicando una tensione
 - Applicando una tensione ad un elettrodo è possibile variare il livello di Fermi dell'elettrodo stesso.

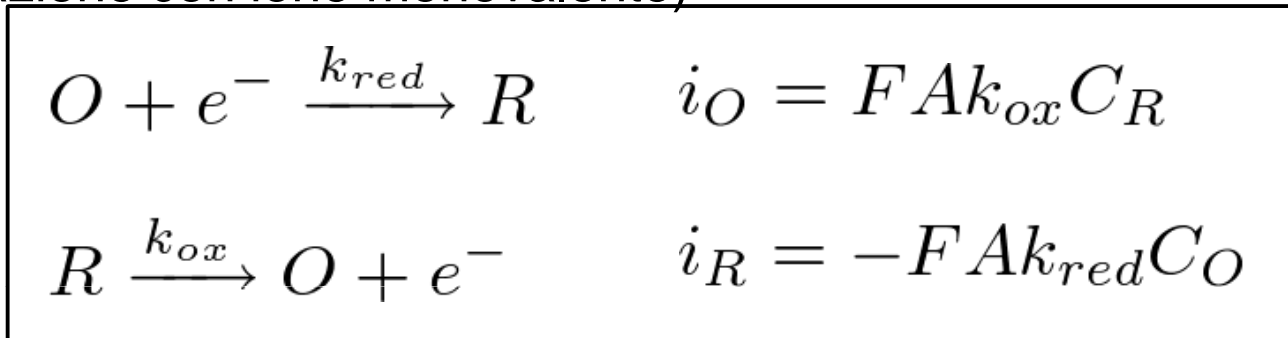
Trasferimento di elettroni e livelli energetici

- Se E_f è minore di LUMO, il salto di un elettrone dall'elettrodo al reagente è termodinamicamente sfavorevole
- Se E_f è maggiore di LUMO il salto è termodinamicamente favorevole
- Se la reazione all'elettrodo avviene o meno dipende dalla cinetica della reazione di trasferimento dell'elettrone
- Reagente
 - HOMO: highest occupied molecular orbital
 - Maggior livello energetico occupato
 - LUMO: lowest unoccupied molecular orbital
 - Minor livello energetico non occupato



Modello della cinetica del trasferimento elettronico

- Modello che descrive l'effetto della tensione applicata all'elettrodo sulla velocità di trasferimento degli elettroni
- Ipotesi semplificativa: reazione con trasferimento di un singolo elettrone (reazione con ione monovalente)

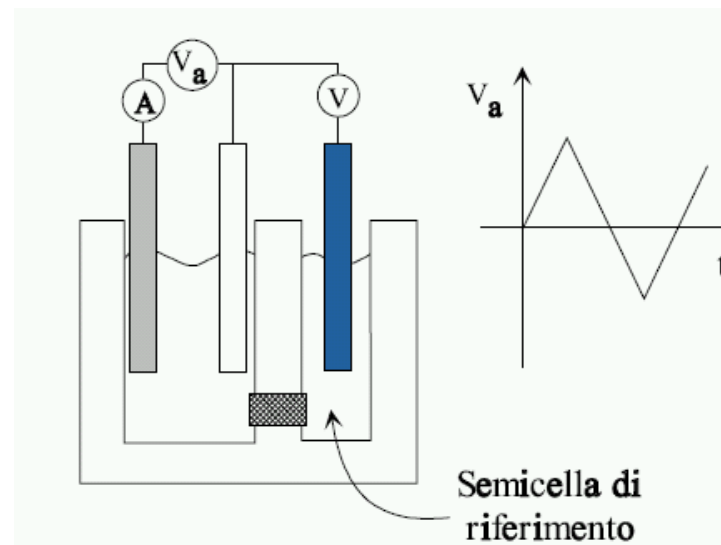


- i_O, i_R corrente che fluisce nei processi di ossidazione e riduzione rispettivamente
- A superficie dell'elettrodo [m^2], C_x concentrazioni superficiali (Moli/ m^2), k_x costante di velocità della reazione [s^{-1}]
- F costante di Faraday → quantità di carica elettrica di una mole di elettroni → $F = N_A \cdot Q_e$ (N_A numero di Avogadro, Q_e carica elettrone)
 - Numero di Avogadro: numero di particelle (atomi, molecole ioni) contenuti in una mole di una sostanza.

- N.B: unità di misura [Coulomb/s] → Ampere OK!

Modello della cinetica del trasferimento elettronico

- Per definizione la corrente legata alla riduzione è negativa e quella legata all'ossidazione positiva. La differenza di segno indica il fatto che la corrente fluisce in direzione opposta all'interfaccia elettrodo soluzione.
 - Il **catodo** è l'elettrodo dove avviene la **riduzione**. Cede elettroni alla soluzione → potenziale negativo. Corrente entrante nell'elettrodo. Per convenzione considerata negativa.
 - L' **anodo** è l'elettrodo dove avviene l'**ossidazione**. Acquisisce elettroni dalla soluzione → potenziale positivo. Corrente uscente dall'elettrodo. Per convenzione considerata positiva.



Modello della cinetica del trasferimento elettronico

- Determinare l'influenza della tensione applicata su k_{ox} e k_{red}
 - Teoria della transizione
 - La reazione procede attraverso una barriera di energia il cui picco è chiamato stato di transizione. Attraverso la teoria della transizione è possibile ottenere la velocità di reazione.

$$k_{red,ox} = Z \exp\left(\frac{-\Delta G_{red,ox}}{RT}\right)$$

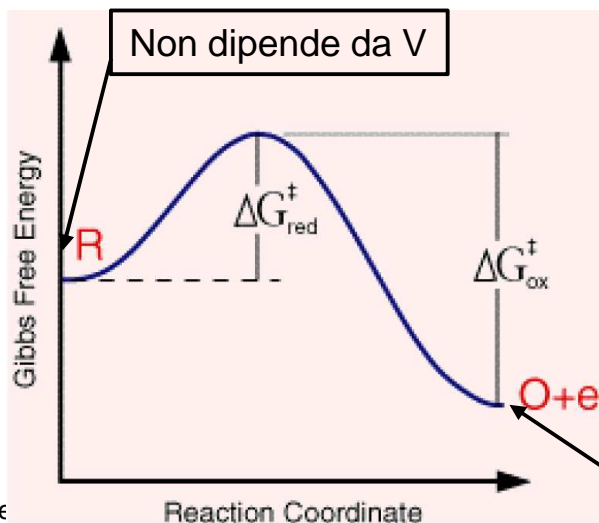
Effetto Barriera:
Se ΔG cresce diminuisce la Velocità di reazione

Modello di Butler-Volmer:

Relazione lineare tra la tensione applicata e la variazione di energia libera. Le energie libere di attivazione per la riduzione e l'ossidazione variano linearmente con V . La costante α è detta coefficiente di trasferimento e vale tipicamente 0.5.

$$\Delta G_{red} = \Delta G_{red}(V = 0) + \alpha FV$$

$$\Delta G_{ox} = \Delta G_{ox}(V = 0) - (1 - \alpha)FV$$



Dipende da V
Livello di Fermi dell'elettrodo

Modello della cinetica del trasferimento elettronico

$$k_{red} = Z \exp\left(\frac{-\Delta G_{V=0}^{red}}{RT}\right) \exp\left(\frac{-\alpha FV}{RT}\right)$$

$$k_{ox} = Z \exp\left(\frac{-\Delta G_{V=0}^{ox}}{RT}\right) \exp\left(\frac{(1-\alpha)FV}{RT}\right)$$

- **Le velocità di reazione e quindi le correnti in gioco aumentano con la tensione applicata**
- NB
 - Riduzione → catodo → $V < 0$ → $K_{red} > 0$ → $i_{red} < 0$ (aumenta in valore assoluto con $|V|$)
 - Ossidazione → anodo → $V > 0$ → $K_{ox} > 0$ → $i_{ox} > 0$ (aumenta in valore assoluto con V)
- NB: la cinetica della reazione elettrodica non è l'unico fattore che influenza la corrente. Spesso sono i fenomeni di trasporto dei reagenti che hanno un'influenza maggiore.

Trasferimento di massa

- **Cinetica del trasferimento: aumentando V potremmo avere una corrente illimitata**
 - Questo non avviene in quanto la corrente all'elettrodo non è limitata esclusivamente dalla costante di velocità ma anche dalla concentrazione superficiale del reagente
 - Se la costante di velocità è alta in modo tale da consumare istantaneamente il reagente sulla superficie dell'elettrodo allora la corrente sarà controllata esclusivamente dal flusso del reagente dal bulk della soluzione fino all'elettrodo.
 - Il flusso del reagente è fondamentale per una corretta determinazione della corrente ed è, in generale, regolato da:
 - **Diffusione**
 - » Effetto di gradienti di concentrazione
 - **Convezione**
 - » Effetto di gradienti di temperatura, pressione, densità, o di agitazione forzata (minimizzata attraverso il controllo di vibrazioni e l'assenza di gradienti di temperatura)
 - **Migrazione**
 - **effetto di un gradiente di campo elettrico, correlato alla differenza di potenziale fra catodo e anodo, che porta gli ioni dell'elettrolita a spostarsi verso l'elettrodo di segno opposto**
 - » Minimizzata attraverso un elettrolita di supporto a concentrazione 100 volte superiore a quello della sostanza da analizzare in modo tale che i suoi ioni mirino al posto di quelli dell'analita

Trasferimento di Massa

▪ Diffusione

- Nel caso di esperimenti di elettrolisi la reazione di conversione avviene sulla superficie dell'elettrodo
 - Bassa concentrazione del reagente sull'elettrodo rispetto al bulk
 - Alta concentrazione del prodotto rispetto al bulk
- Reagente diffonde verso l'elettrodo e il prodotto verso il bulk

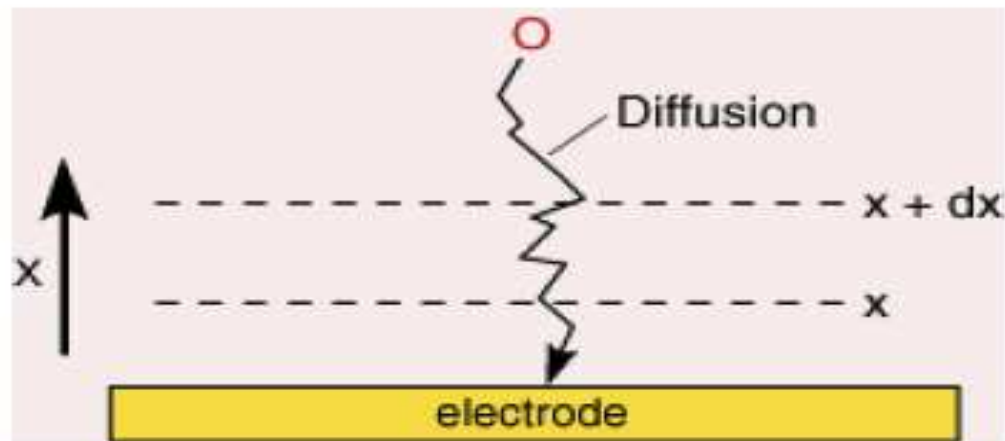
▪ Leggi di Fick (caso monodimensionale)

$$J = -D \frac{\delta C(x, t)}{\delta x} \quad \frac{\delta C(x, t)}{\delta t} = -\frac{\delta J}{\delta x} \quad \frac{\delta C(x, t)}{\delta t} = D \frac{\delta^2 J}{\delta^2 x}$$

- J flusso [moli / (m² s)], C [moli /m³], D coefficiente di diffusione [m² / s]
 - Direzione x normale all'elettrodo
 - Numero di moli che attraversa la superficie dell'elettrodo nell'unità di tempo dipende dal profilo di concentrazione del reagente

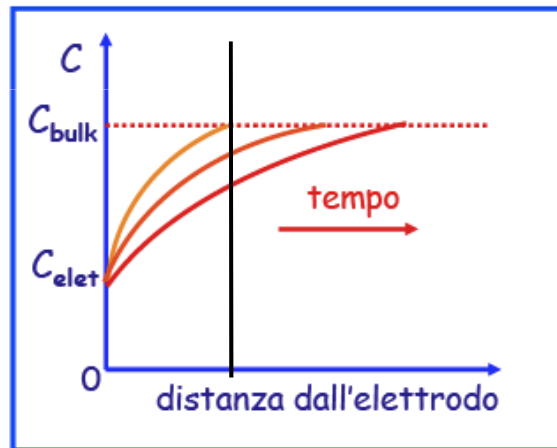
Trasporto di massa

- La velocità di variazione della concentrazione è relazionata alla variazione di gradiente di concentrazione
- Si può risolvere l'equazione differenziale nel caso di diffusione semi-infinita ottenendo la concentrazione sulla superficie dell'elettrodo in funzione della concentrazione di Bulk

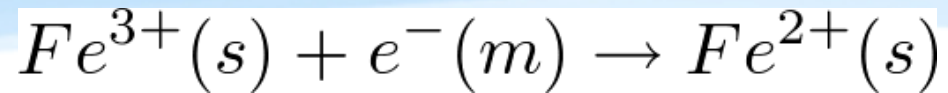


Profilo di concentrazione dell'analita sotto controllo diffusionale

- In condizioni di controllo diffusionale il profilo di concentrazione della specie coinvolta nella reazione redox (ad esempio O ridotta a R) cambia nel tempo, a parità di potenziale applicato all'elettrodo.
 - Il reagente viene trasformato in R



Voltammetria a Gradino di potenziale (potential step)

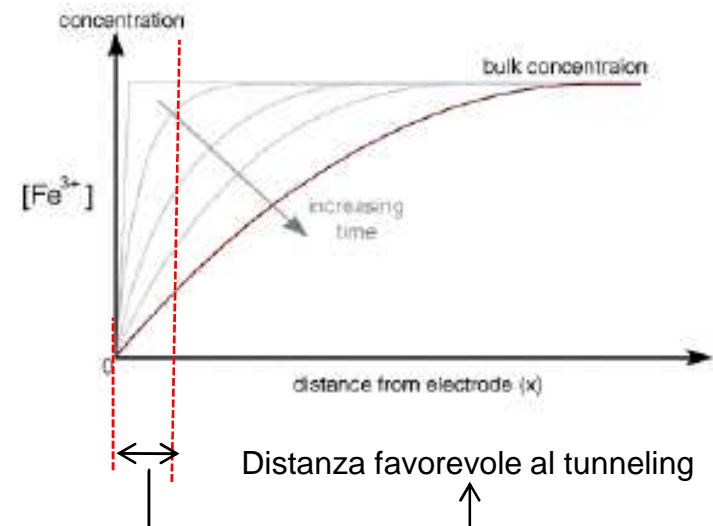
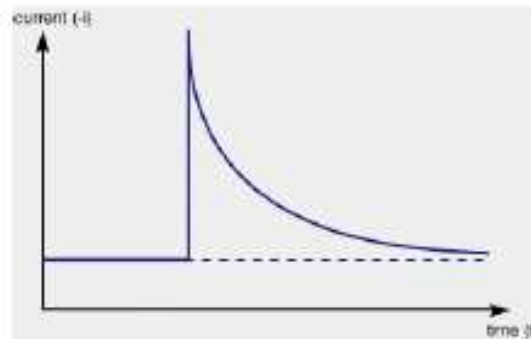
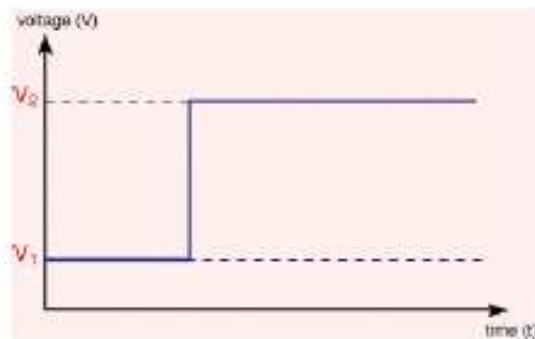


- Gradino di potenziale applicato
 - V_1 riduzione Fe^{3+} non favorevole termodinamicamente
 - V_2 riduzione Fe^{3+} favorevole termodinamicamente
- La corrente cresce istantaneamente dopo l'applicazione del gradino e poi decade fino a zero
 - All'istante precedente all'applicazione del gradino l'elettrodo è completamente coperto dal reagente e la soluzione ha un profilo di concentrazione costante
 - Successivamente il reagente viene trasformato ($Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$) e fluisce una corrente alta. Per far continuare la reazione c'è bisogno di nuovo reagente che fluisce sulla superficie per diffusione.
 - Inizialmente il flusso di reagente è alto dal momento che la variazione della concentrazione rispetto al bulk avviene in uno strato ridotto.
 - Al variare del tempo il gradiente di concentrazione cala. La corrente varia in maniera corrispondente in quanto cala la disponibilità di reagente all'interfaccia.

Voltammetria a Gradino di potenziale (potential step)

- Dalla risoluzione dell'equazione del trasporto nel caso monodimensionale otteniamo l'andamento della corrente

$$i = nFAk_{red}C_O^{bulk} \sqrt{\frac{D}{\pi t}}$$

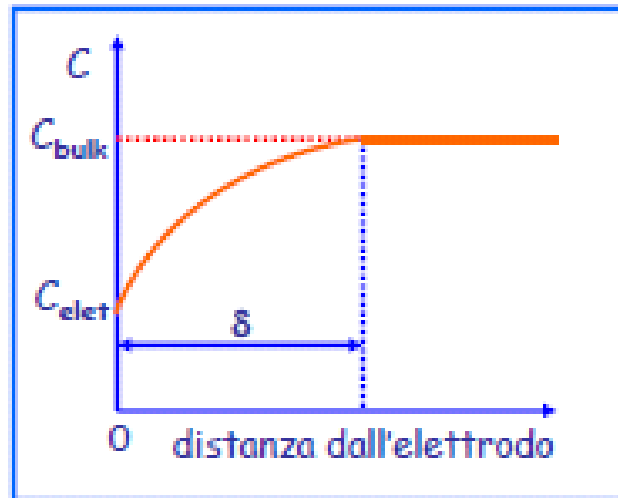


Voltammetria a Gradino di potenziale (potential step)

$$i = nFADk_{red}C_O^{bulk} \sqrt{\frac{1}{\pi Dt}}$$

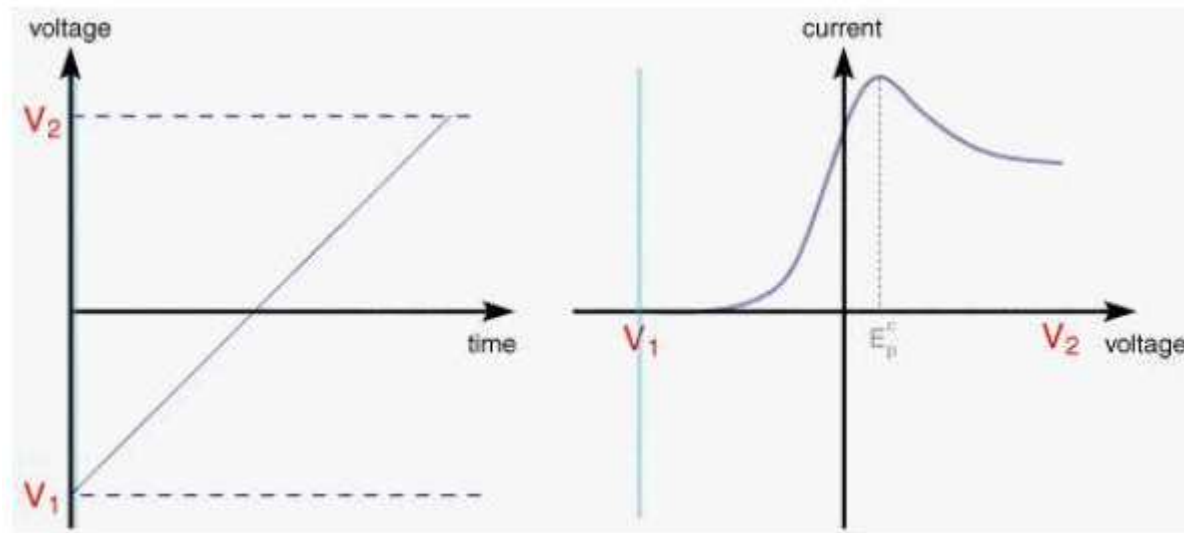
Equazione di Cottrel

- Il termine $(\pi Dt)^{0.5}$ rappresenta lo spessore del cosiddetto strato di
- Diffusione (δ) ossia lo strato di soluzione che separa l'elettrodo dal piano in cui la concentrazione della specie redox torna ad essere uguale a quella di bulk.



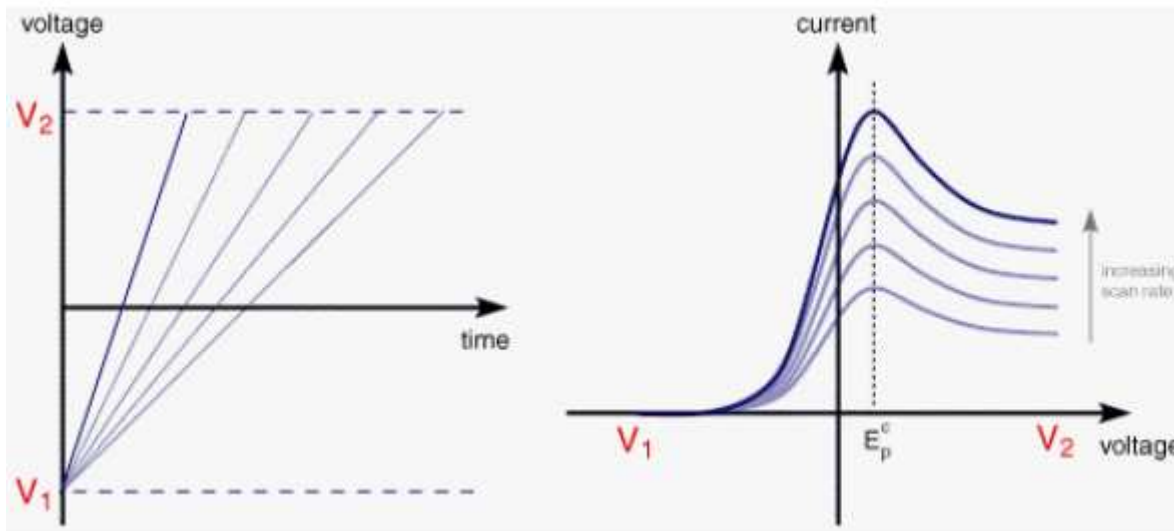
Voltammetria a variazione lineare di potenziale - Linear sweep o polarografia

- Il potenziale elettrico viene variato linearmente nella finestra di potenziale
- Considerando la velocità della reazione molto maggiore della velocità della curva
 - La corrente è diversa da zero quando la reazione diventa termodinamicamente favorevole
 - All'incrementare di V_1 la corrente cresce in quanto la velocità di reazione cresce (corrente dovuta alla reazione red/ox ipotizzando costante la concentrazione superficiale)
 - Picco: la velocità di reazione raggiunge un punto per il quale tutto il reagente viene consumato, lo strato di diffusione cresce e il flusso di reagente inizia a decrescere (vale l'equazione di Cottrell)



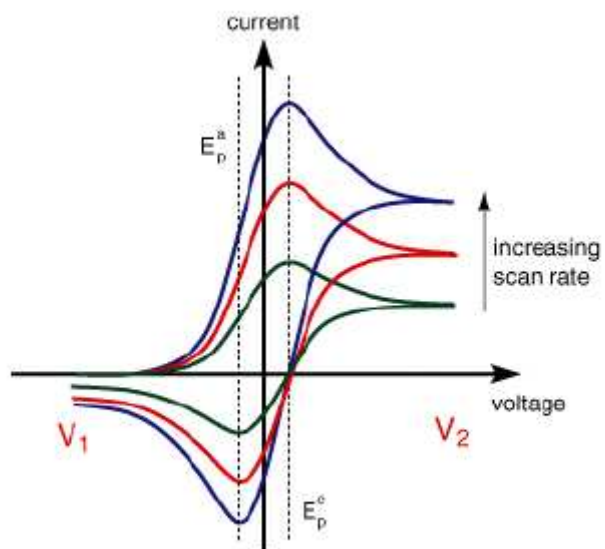
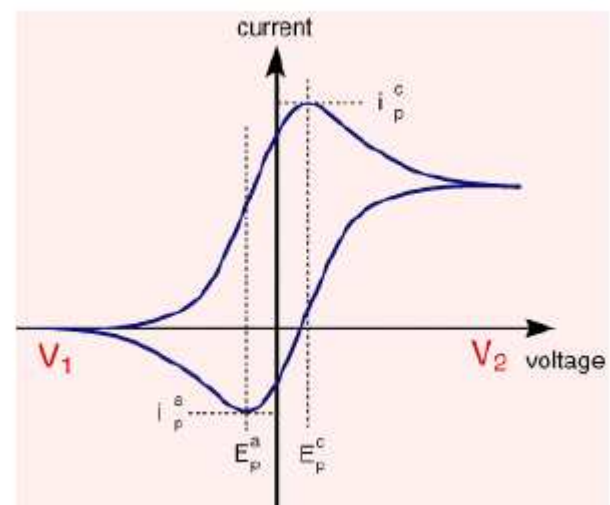
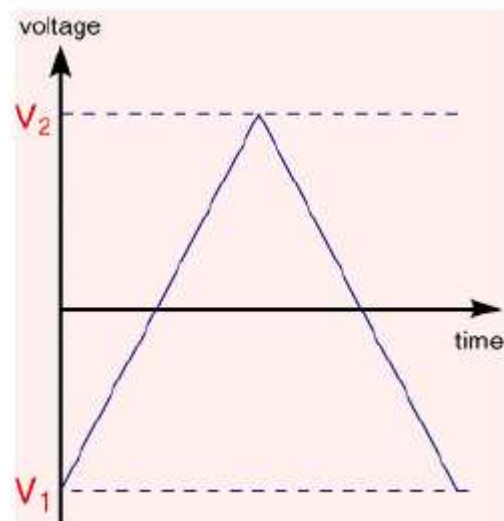
Voltammetria a variazione lineare di potenziale - Linear sweep o polarografia

- Applicando variazioni lineari a velocità diverse (lente rispetto alla reazione di elettrodo)
 - Il picco avviene alla stessa tensione
 - Velocità della reazione red/ox che consuma tutto il reagente (dipende dal potenziale di riduzione/ossidazione della specie)
 - L'altezza del picco cresce con la pendenza della curva (dipende da C_O nel bulk)
 - Curve lente: lo strato di diffusione sarà più ampio (Fick), il gradiente più basso e quindi la corrente minore



Nota: Tramite il potenziale del picco è possibile identificare il tipo di reazione

Voltammetria ciclica



Misure di gas disciolti

- Misura dell'ossigeno
 - Elettrodo di ossigeno
 - L'elettrodo Clark
- Misura di anidride carbonica
- *Sensori chimici microelettronici allo stato solido*
- *Confronto tra ISFET e elettrodi classici ionoselettivi*
- Misurazione transcutanea dei gas nel sangue
 - Monitoraggio transcutaneo di anidride carbonica
 - Monitoraggio transcutaneo di ossigeno
- Sensori ottici
 - Il sistema optoelettronico
 - La sonda: "l'optrodo"

Misura dell'ossigeno

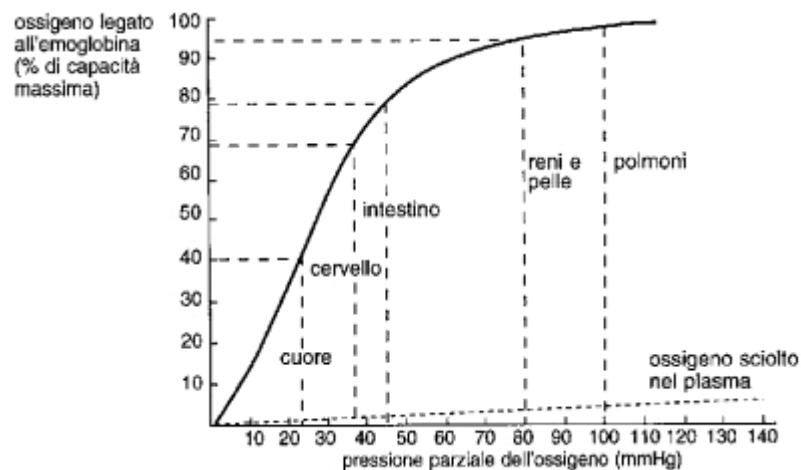
- Ruolo essenziale nella funzionalità cellulare.
- Necessità di strumenti semplici ed efficienti in grado di misurare l'ossigeno presente nel sangue e nei tessuti.
- Il contenuto di ossigeno (o la concentrazione) è il volume di ossigeno (a 0°C e 760 mmHg) presente in un certo volume di soluzione e viene espresso comunemente in ml per 100 ml oppure ml per litro.
- In una soluzione in equilibrio con una miscela di gas contenente O₂, la concentrazione di O₂ in soluzione dipenderà, in generale, dalla *pressione parziale* dell'ossigeno (PO₂).
- La concentrazione di ossigeno espressa in termini della sua pressione parziale PO₂ (quindi in mmHg) e 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** p_i 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:
 - $\text{Ox. sat.} = (\text{O}_2 \text{ nel sangue} / \text{Max. O}_2 \text{ contenibile dal sangue}) \times 100$.

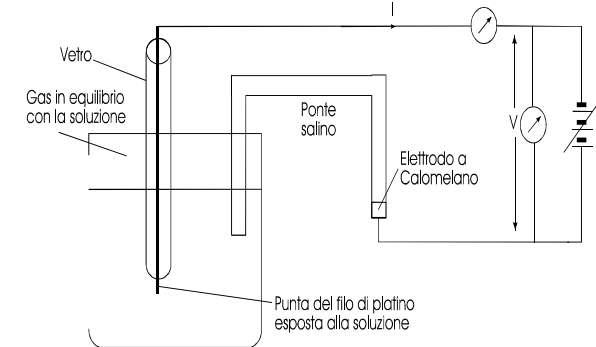


In particolare, quando la PO₂ è elevata, l'emoglobina presente nel sangue viene saturata, quindi la concentrazione di O₂ nel sangue è massima.

Elettrodo di ossigeno

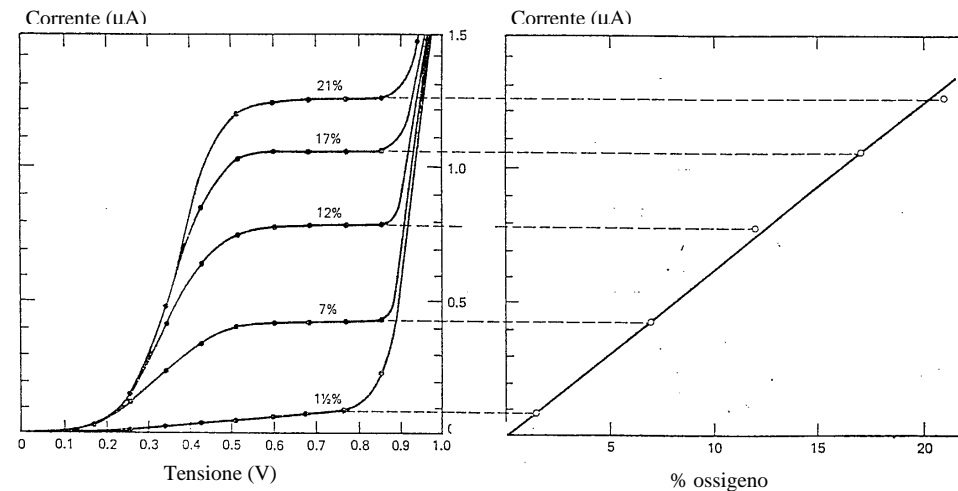
Elettrodo di un metallo nobile (in genere platino) polarizzato negativamente rispetto ad un elettrodo di riferimento.

Sistema: caratteristiche corrente-tensione derivanti dall'analisi di soluzioni con diverse concentrazioni di ossigeno disciolto.



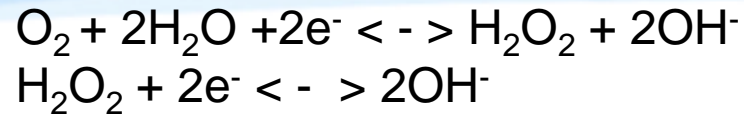
Le correnti tendono a crescere con la tensione, fino a raggiungere una zona di plateau in cui il loro valore è indipendente dalla tensione (componente diffusiva).

In questa regione del grafico, **il valore della corrente è proporzionale al contenuto di ossigeno.**



Caratteristica corrente-tensione nell'elettrodo di ossigeno.

La corrente nel catodo deriva, probabilmente, da un processo in due passi del tipo:



Nonostante non ci sia ancora completo accordo su alcuni dettagli della reazione, sembra certo che tutto il perossido di idrogeno (H_2O_2), in circostanze normali, venga completamente ridotto.

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 determinata dallo scambio elettronico.
- Per tensioni maggiori, il meccanismo è limitato dalla diffusione, l'attività dell'ossigeno diventa nulla e la corrente misurata dipende dalla concentrazione di ossigeno nel bulk (la curva satura)

L'elettrodo Clark

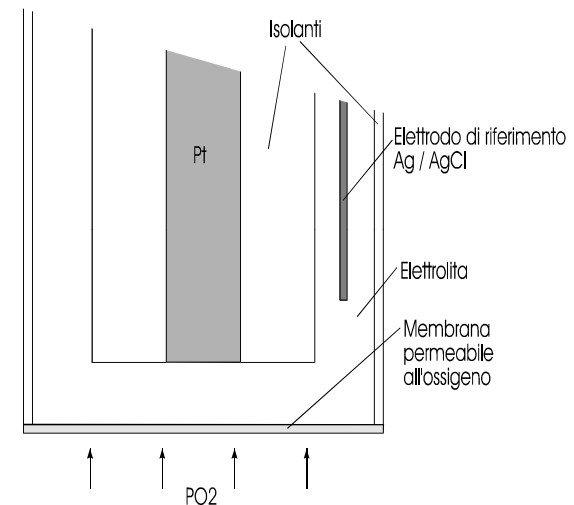
Elettrodi di ossigeno dotati di stabilità e convenienza (L. C. Clark 1956).

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, anche 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, miscugli 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 ha fornito 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 .

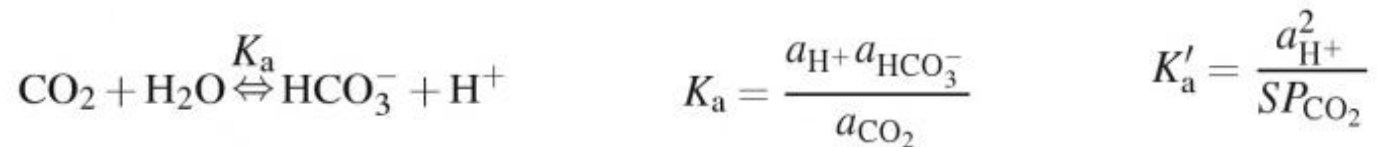
La concentrazione di acido carbonico è proporzionale alla tensione di CO_2 :

$$[H_2CO_3] = \alpha PCO_2 \quad (\alpha \text{ è la solubilità della } CO_2 \text{ in acqua})$$

Misure di anidride carbonica

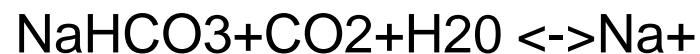
$$a_{\text{CO}_2} = SP_{\text{CO}_2}$$

S: solubilità CO₂ in acqua



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

Aggiungendo bicarbonato NaHCO₃ la sensibilità raddoppia. Nelle concentrazioni normalmente impiegate, il bicarbonato di sodio è completamente dissociato in Na⁺ + HCO₃⁻.



$$K'_a = \frac{a_{\text{H}^+}}{\alpha P_{\text{CO}_2}} \quad \text{pH} = \text{const.}' - \log P_{\text{CO}_2}$$

Per modificare il comportamento del sensore: membrane non molto permeabili alla CO_2 , 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.

Il tempo di risposta si riduce con una minore concentrazione di bicarbonato (meno di 0.001 M), a scapito, però, della sensibilità e della stabilità

Misurazione transcutanea dei gas nel sangue

I recenti progressi della strumentazione medica hanno fatto dell'analisi transcutanea dei gas presenti nel sangue una tecnica universalmente accettata nella diagnosi e nel trattamento di diverse patologie polmonari, soprattutto in neonatologia.

Le applicazioni cliniche più importanti comprendono:

1. la valutazione di squilibri acido-base e il rilevamento di iperossia (eccesso di ossigeno),
2. ipossia (carenza di ossigeno)
3. ipercapnia (eccesso di anidride carbonica).

- tecniche elettrochimiche o spettrofotometriche su campione di sangue prelevato dal paziente (analisi in vitro).
- Disagio causato al paziente si aggiungeva l'impraticabilità di un monitoraggio continuo, importante nel caso di situazioni critiche in cui avvengono rapidi cambiamenti a livello cardiopolmonare.
- Tecniche non invasive per l'analisi dell'ossigeno e dell'anidride carbonica presenti nel sangue. I due gas diffondono attraverso la pelle;
- Lo spettro di assorbimento ottico del sangue dipende dalla quantità di ossigeno in esso contenuta.

Questa ultima caratteristica è impiegata nei dispositivi optoelettronici (ossimetria ottica),

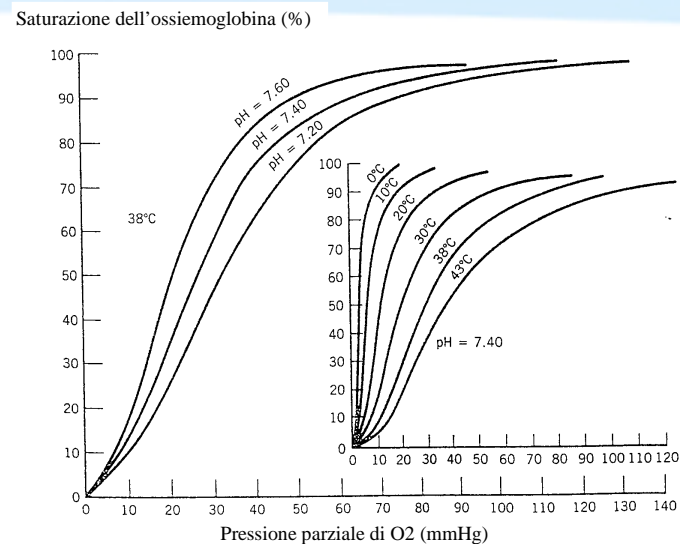
L'ossigeno è presente nel sangue in due stati. In condizioni fisiologiche normali, circa il 2% dell'ossigeno presente nel sangue si trova disciolto nel plasma.

Il restante 98% si trova legato reversibilmente all'emoglobina.

La pressione parziale dipende linearmente dall'ossigeno disciolto e non linearmente da quello legato all'emoglobina.

Questa ultima relazione è di tipo sigmoide.

Dalla curva si vede che la PO_2 è un parametro indicato per la misurazione dei valori più alti di ossigenazione, mentre la saturazione di ossigeno (SO_2) manifesta una maggiore sensibilità nei casi di ipossemia (ossigeno sotto l'80%). Nel sangue arterioso la PO_2 è normalmente attorno ai 100 mmHg ($SO_2 = 98\%$), mentre nel sangue venoso si hanno valori per PO_2 intorno ai 40 mmHg ($SO_2 = 75\%$).



Curva di dissociazione dell'ossiemoglobina.

L'anidride carbonica si può trovare disciolta oppure in combinazione con l'emoglobina o altre proteine plasmatiche.

Quella disciolta, reagisce con l'acqua per formare acido carbonico che, a sua volta, si può dissociare in idrogeno e ioni bicarbonato.

In condizioni normali di riposo,

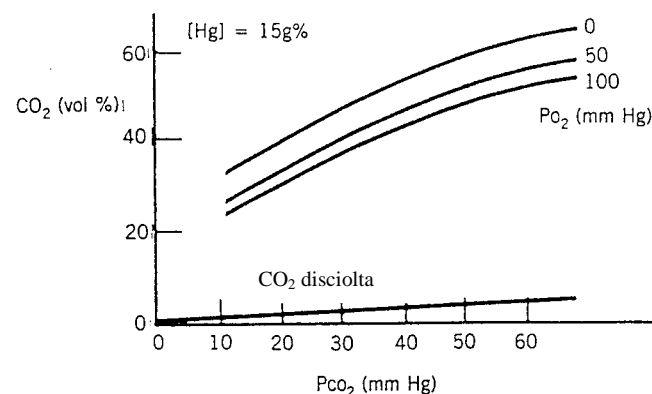
il 70% dell'anidride carbonica nel sangue si trova nello stato appena descritto,

il 7% viene trasportato semplicemente disciolto


il 23% in combinazione con l'emoglobina (carbamminoemoglobina).

La quantità totale di anidride carbonica presente nel sangue dipende dalla pressione parziale.

È importante notare che la relazione è funzione anche della PO_2 , perché l'ossigeno che si lega all'emoglobina tende ad allontanare la CO_2 dal sangue. La PO_2 è di circa 40 mmHg nel sangue arterioso e 45 mmHg in quello venoso.



Curva di dissociazione dell'anidride carbonica.



Il meccanismo attraverso cui le pressioni parziali di ossigeno ed anidride carbonica si rendono disponibili all'esterno della pelle risiede nella **permeabilità** a questi gas dei due strati più superficiali della pelle stessa (strato corneo ed epidermide).

Nello strato più profondo (derma) si trova una fitta rete di capillari organizzati in strutture prevalentemente verticali di circa 0,2 - 0,4 mm. Inoltre, il flusso di O₂ e CO₂ attraverso la pelle può aumentare anche di 30 volte in risposta ad un riscaldamento della superficie cutanea.

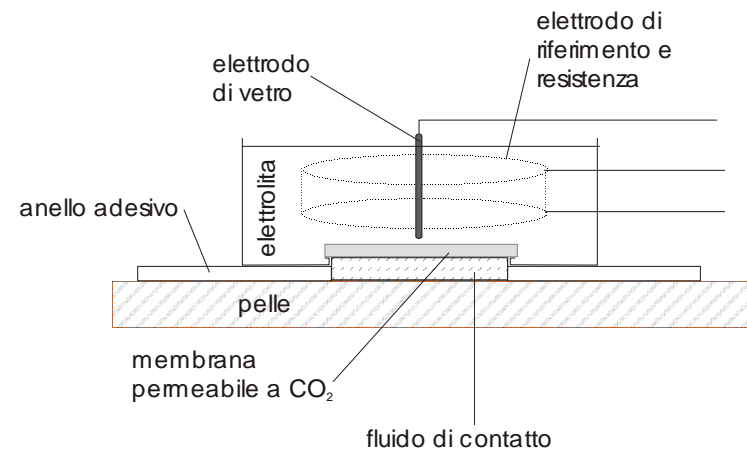
In condizioni normali, la PO₂ misurata in prossimità della pelle è meno di 2,5 mmHg, ma se la zona interessata viene riscaldata fino a 43°C, la pressione parziale si porta a valori vicini a quelli sanguigni, forse a causa di cambi strutturali nello strato corneo.

Monitoraggio transcutaneo di anidride carbonica

Tipico sensore di PCO_2 transcutaneo di tipo Clark.

Costituito da un sensore di pH in vetro, con elettrodo di riferimento esterno ad Ag/AgCl concentrico, che fa anche da riscaldatore.

Un elettrolita tampone (per esempio, HCO_3^-) è tenuto a contatto degli elettrodi per mezzo di una membrana CO_2 -permeabile.



Sezione di un sensore transcutaneo di P_{CO_2}

Il riscaldamento causa un aumento della PCO_2 (diminuisce la solubilità dell'anidride carbonica), una crescita del metabolismo locale ed una maggiore diffusione della CO_2 attraverso lo strato corneo della pelle. Quindi il valore della PCO_2 transcutanea risulta quasi sempre maggiore della corrispondente PCO_2 arteriosa. Nonostante questa differenza, la correlazione tra i due valori è soddisfacente e un'opportuna calibrazione permette di aggirare il problema.

Monitoraggio transcutaneo di ossigeno

Struttura simile a quella di un analogo sensore di CO₂.

Tre catodi di platino sigillati in vetro sono collegati ad un anodo cilindrico Ag/AgCl che li circonda.

L'elettrolita è un tampone a base di KCl con un piccolo contenuto d'acqua, per evitare che il sensore si asciughi.

Gli elettrodi sono ricoperti da un sottile strato di soluzione elettrolitica racchiusa da una membrana che consente una lenta diffusione dell'ossigeno dalla pelle al sensore.

Un elemento riscaldante porta la temperatura della pelle tra i 43 °C e i 44°C.

Il riscaldamento provoca una maggiore permeabilità dell'ossigeno attraverso lo strato corneo della pelle ed una maggiore irrorazione del tessuto, in modo tale che la PO₂ dei capillari approssima con maggiore precisione quella del sangue arterioso.

Di solito, questi sensori sono dotati di un anello autoadesivo in plastica simile a quello degli elettrodi usa e getta per ECG, in modo da impedire la fuoriuscita del gas.

Attendere dai 10 ai 15 minuti prima di avere una vasodilatazione ottimale, mentre dopo 5 - 6 ore di monitoraggio continuo, è consigliabile cambiare la posizione del sensore.

Sensori ottici

Sensori chimici che sfruttano principi ottici sono quasi esclusivamente a fibra ottica.

Ruolo fondamentale nella realizzazione di dispositivi per la misura in situ ed in continuo.

Le fibre ottiche, rispetto ad altri sistemi di misura, presentano i seguenti vantaggi:

- No interferenze elettromagnetiche, Non c'è bisogno di contatti elettrici; ciò le rende più sicure per applicazione nel settore biomedico.
- Facilmente miniaturizzate con diverse geometrie. Flessibilità meccanica essenziale per applicazioni biomediche invasive.
- Tramite la combinazione di diverse fibre è possibile formare una rete di fibre ognuna interrogabile per parametri diversi.

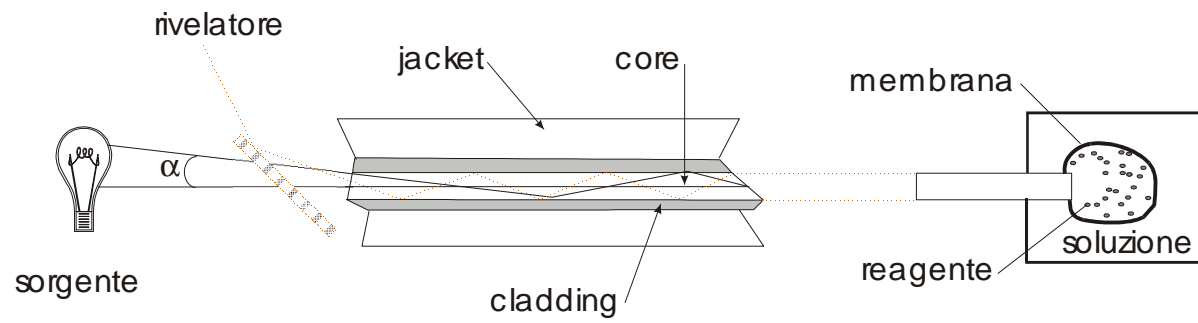
Il sensore a fibra ottica consiste in tre parti principali:

1) un sistema optoelettronico che contiene l'hardware ed il software necessari per acquisire ed elaborare i segnali di uscita.

2) un connettore ottico per portare il segnale ottico dalla sonda alla strumentazione e viceversa.

3) la sonda, chiamata "optrodo", dove avviene la modulazione del segnale ottico.

Sistema a fibra ottica



Il sistema optoelettronico

Il sistema optoelettronico costituisce una parte importante di un sensore a fibra ottica, la progettazione e costruzione della sonda stessa è il problema più cruciale.

Le sorgenti ottiche possono essere lampade, laser o LED.

Nel caso di **lampade o laser a gas** è richiesto l'uso di componenti ingombranti ad es. lenti e microposizionatori per garantire un accoppiamento ottimo tra fibra e sorgente.

- Le sorgenti devono essere accoppiate a sistemi per la modulazione della luce, solitamente tramite interruttori meccanici.
- Sono richiesti filtri ottici per selezionare una lunghezza d'onda appropriata per l'analisi.

Dati questi limiti, sono preferiti i LED o i diodi laser perché l'accoppiamento fibra-sorgente è più diretto ed è possibile modulare elettronicamente l'ampiezza e la frequenza del segnale d'uscita.

Il sistema di rivelazione consiste in un rivelatore ottico (ad es. fotomoltiplicatore, fotodiodo, ecc.) accoppiato ad un sistema elettronico per l'elaborazione del segnale. Inoltre l'eventuale uso di fluorofori (molecola con proprietà di fluorescenza nei sensori a fluorescenza) richiede l'impiego di filtri ottici prima della rivelazione per discriminare tra radiazione d'eccitazione ed emissione.

I componenti ottici sono basati sulla tecnologia del silicio, ad es. i LED, circuiti integrati e fotodiodi. Non sempre adatti perché i sistemi basati sull'uso di silicio sono disponibili solo per lunghezze d'onda nel visibile o nell'infrarosso vicino.

Notevoli progressi sono in corso legati alle tecnologie OLED (Organic High Emitting Diodes).

Sono riportati alcuni dati sul campo di lavoro ed attenuazione delle fibre più utilizzate.

Range di lavoro ed attenuazione di fibre

<i>Tipo di fibre</i>	<i>Lunghezze d'onda di lavoro (micron)</i>	<i>Attenuazione (dB/m)</i>
Fibre di silicio	0.2-0.4	Da 3 a 0.08
	0.4-2.1	Sotto 0.080
	0.70-0.90	0.003-0.005
	Finestre ottiche 1.05-1.35	0.0005-0.002
	1.45-1.75	0.0002-0.003
Fibre plastiche	0.4-0.8	0.3-3
Fibre di fluoruro	1.5-4.5	0.002-0.02
Fibre di calcogenuro	3.0-11	0.5-5
Fibre policristalline di sali d'argento - alogeni	4.0-20	0.05-5

La sonda: “l’optrodo”

Componente critico del sistema: deve avere una sensibilità e precisione idonea per l’applicazione, di facile utilizzo, integrato con il resto del sistema.

All’interno dell’optrodo le proprietà ottiche della luce trasmessa dalle fibre vengono modulate in funzione del campione.

La modulazione può essere diretta od indiretta.

1. L’analita possiede proprietà ottiche intrinseche (fluorescenza, assorbimento, ecc.) che possono essere rivelate. Sistemi diretti sono più facilmente realizzabili perché richiedono solo l’ottimizzazione di una celletta fotometrica collegata ad una fibra ottica.
2. L’analita non possiede proprietà ottiche intrinseche è necessario che avvenga una interazione tra l’analita ed un trasduttore chimico o reagente contenuto all’interno dell’optrodo.

Processo di trasduzione:

Reazione tra l'analita ed il reagente, in maniera tale che le proprietà ottiche del sistema varino con la concentrazione di analita.

Un esempio di sistemi indiretti sono i sensori di ossigeno, in cui l'ossigeno interagisce con un fluoroforo causando una diminuzione di fluorescenza ("quenching"), i sensori di pH in cui gli ioni H⁺ reagiscono con un indicatore acido-base (ad es. rosso fenolo) od un fluoroforo, causando una variazione in assorbimento o fluorescenza emessa.

In alcuni casi l'analita non modula direttamente le proprietà ottiche del reagente, ma reagisce dando luogo ad un prodotto chimico.

Esempio: la rivelazione di CO₂ è basata sulla misura di variazione di pH di una soluzione contenente ioni CO₃²⁻, in quanto l'acidità della soluzione dipende dalla quantità di CO₂ sciolta in essa.

