

## Tema 7: Electrolitos, equilibrio ácido-base y gases en sangre

### 1. Análisis cuantitativo de electrolitos.

### 2. Medida analítica del pH en sangre y orina.

### 3. Determinación de gases en sangre.

#### 1. Análisis cuantitativo de electrolitos

Los principales electrolitos que aparecen en el organismo son:

Cationes:  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$

Aniones:  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{HPO}_4^{-2}$

Los métodos analíticos más utilizados para su determinación son:

- 1.1. Métodos enzimáticos
- 1.2. Espectrofotometría de absorción atómica
- 1.3. Espectrofotometría de emisión de llama
- 1.4. Potenciometría, concretamente "electrodos ion-selectivos"

**1.1. Métodos enzimáticos:** basados en la determinación de determinadas actividades enzimáticas que necesitan electrolitos concretos para ser activas.

#### 1.2. Espectrofotometría de absorción atómica:

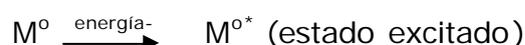
Esta técnica es muy empleada para determinar la concentración de  $\text{Ca}^{+2}$  y  $\text{Mg}^{+2}$ .

El fundamento de la espectrofotometría de absorción atómica es la absorción de radiación electromagnética por los átomos neutros (no excitados) en la llama.

El espectrofotómetro de absorción atómica posee un atomizador de la muestra que la dispersa hacia la llama. En la llama, los gases reductores transforman los iones metálicos en átomos neutros.



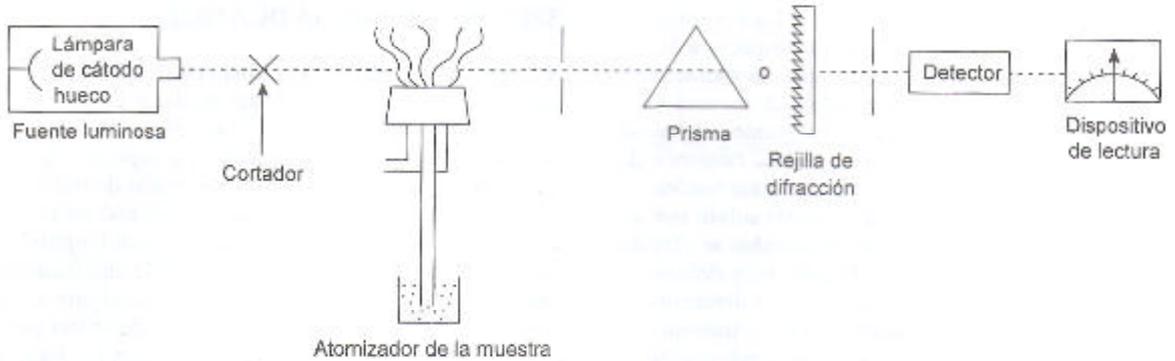
A continuación la llama se ilumina con radiación electromagnética de una longitud de onda muy específica, procedente de una lámpara de cátodo hueco. Los átomos en estado basal absorben la energía electromagnética de la lámpara y efectúan transiciones electrónicas del estado basal al excitado.



Las radiaciones electromagnéticas que se transmiten y que no son absorbidas llegan al monocromador. Por último, el detector determina la reducción de intensidad luminosa del haz que procede de la lámpara de

cátodo hueco. La disminución de intensidad será proporcional a la concentración del metal en la muestra.

La espectrofotometría de absorción atómica es una técnica muy sensible (más que la espectrofotometría de emisión de llama) puesto que a la temperatura de la llama el 99.99% de los átomos se encuentra en estado basal.



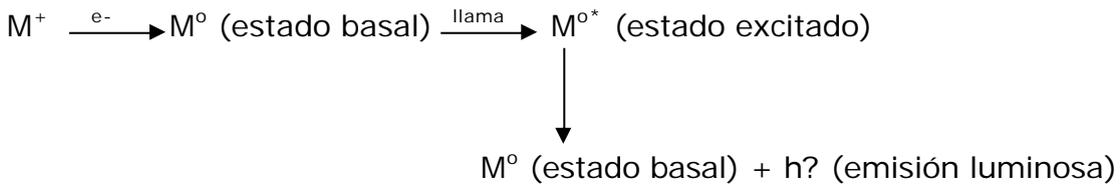
Espectrofotómetro de absorción atómica

### 1.3. Espectrofotometría de emisión de llama:

Esta técnica es muy empleada para determinar la concentración de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Li}^+$ .

En la fotometría de emisión de llama se mide la radiación electromagnética que emite una pequeña fracción de los átomos excitados de la muestra en la llama.

Al igual que en el caso anterior, un atomizador dispersa la muestra hacia la llama, en la que los iones experimentan las siguientes reacciones:



En la espectrofotometría de emisión de llama la llama cumple dos funciones:

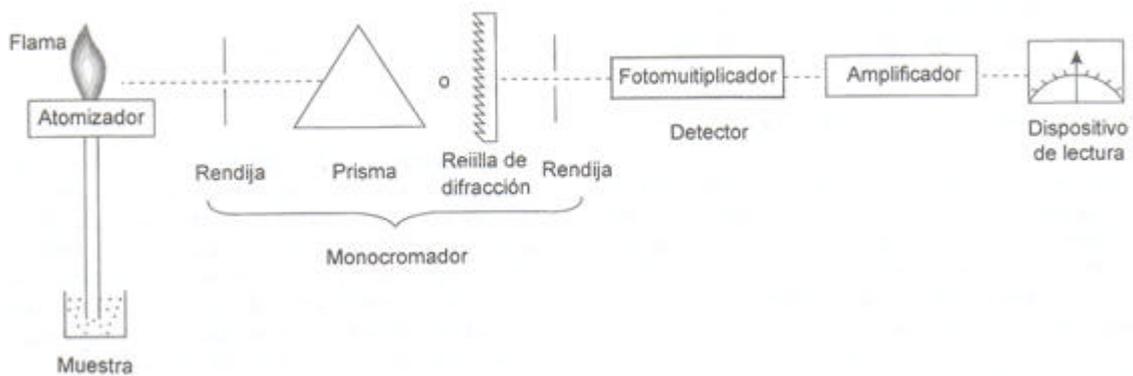
1. Sus gases reductores transforman iones metálicos ( $\text{M}^+$ ) en átomos neutros ( $\text{M}^0$ ).
2. Proporciona la energía térmica necesaria para la transición de los electrones de unos orbitales a otros de energía superior (ej. de s a p) favoreciendo por tanto los estados excitados ( $\text{M}^{0*}$ ).

El paso del estado excitado al estado basal conlleva una emisión luminosa de una longitud de onda característica para cada elemento.

Para calcular la concentración del ión se compara la intensidad de luz emitida con la intensidad de luz emitida por una solución de concentración conocida de electrolito (estándar externo). Además existe también un estándar interno que se aspira a velocidad fija y que sirve para minimizar las alteraciones que pueden tener lugar por ejemplo por fluctuaciones en la temperatura de la llama. Así:

$$[\text{problema}] = \frac{\text{Respuesta relativa del problema}}{\text{Respuesta relativa del estándar}} \times [\text{estándar}] =$$

$$\frac{I_{\text{emisión del problema}}/I_{\text{emisión del estándar interno}}}{I_{\text{emisión del estándar}}/I_{\text{emisión del estándar interno}}}$$



Fotómetro de llama

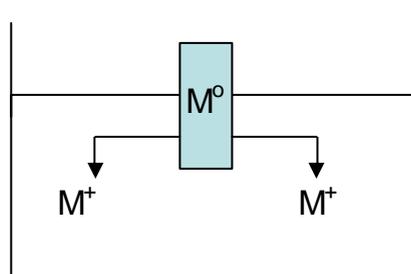
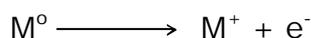
#### 1.4 Potenciometría, "electrodos ion-selectivos"

La electroquímica utiliza la capacidad de algunas reacciones químicas para generar electricidad mediante la transferencia de electrones.

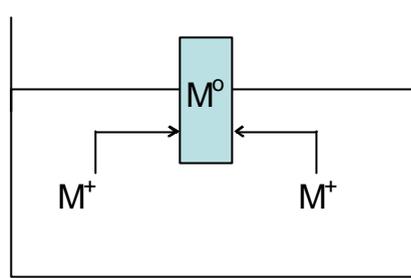
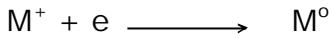
Una célula electroquímica está formada por:

- dos conductores llamados electrodos, cada uno sumergido en una disolución adecuada de electrolito
- un puente salino inerte para que circule la corriente eléctrica
- un potenciómetro que mide la diferencia de potencial generada

Cuando un metal se sumerge en una disolución de sus propios iones los átomos del metal tienden a pasar a la disolución como iones liberando electrones (reacción de oxidación). La lámina de metal introducida en la solución se llama electrodo y concretamente ánodo, el sistema completo se llama semicélula.

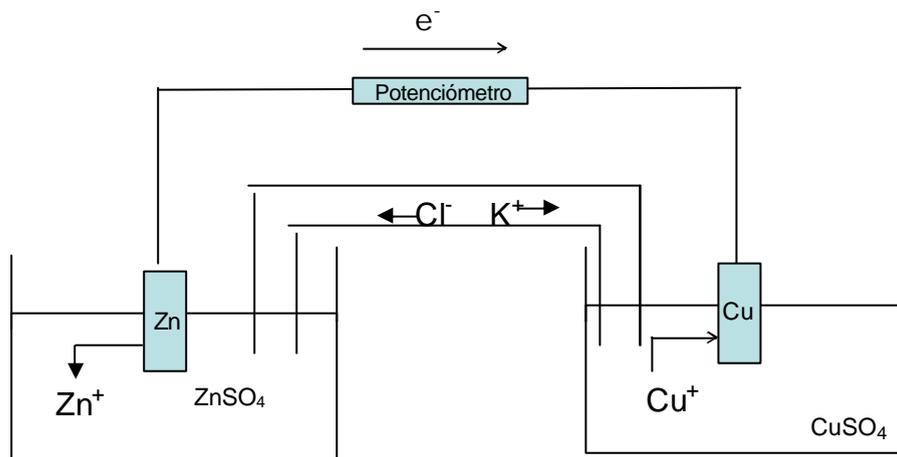


Con algunos metales ocurre el proceso contrario, los iones metálicos de la disolución toman electrones (reacción de reducción) y pasan a átomos neutros que se depositan en el electrodo que recibe el nombre de cátodo.



En ambos casos el potencial generado se encuentra en relación directa con la concentración de los iones metálicos en solución.

Una célula electroquímica está formada por dos semicélulas, una con el cátodo y otra con el ánodo. Así, en la célula electroquímica el exceso de electrones del ánodo se dirige y es consumido en el cátodo. En definitiva, se está generando una corriente eléctrica. En el dibujo inferior se puede ver un ejemplo de célula electroquímica.



En los métodos electroquímicos se compone una célula electroquímica con dos semicélulas denominadas electrodo indicador y electrodo de referencia.

- El electrodo de referencia es una semicélula de potencial conocido y constante, generalmente el cátodo, que se utiliza para componer una célula con otra semicélula y obtener una diferencia de potencial proporcional a la concentración del electrolito al que es sensible el electrodo indicador.
- El voltaje del electrodo indicador responde proporcionalmente a la concentración del electrolito de interés.

La diferencia de potencial entre ambos es proporcional a la concentración del electrolito a la que es sensible el electrodo de referencia.

Los principales electrodos de referencia son:

- El electrodo de hidrógeno/ión hidrógeno: electrodo de platino en una solución de HCl con hidrógeno a presión atmosférica que borbotea sobre la superficie de platino. Es de difícil mantenimiento y por lo tanto poco usado.
- Electrodo de calomelanos: mercurio metálico en contacto con una solución de cloruro mercurioso (calomelanos) la cual a su vez está en contacto con una solución de cloruro potásico (generalmente saturada).
- Electrodo de plata/cloruro de plata: varilla de plata, recubierta de cloruro de plata y sumergida en una disolución de iones cloruro.

### ***Electrodos ión-selectivos (ISE)***

Los electrodos ión selectivos son electrodos indicadores con un mecanismo de selección asociado a la membrana que los hace sensibles sólo a variaciones de potencial debidas a la concentración de un determinado ión. Aunque no es preciso, podríamos decir que el ISE es "permeable" frente a un ión concreto (realmente se encuentra entre dos disoluciones de diferente concentración: una de las disoluciones es una solución interna con una concentración fija del ión a medir y la otra solución es la muestra problema. El ión se une a la cara de la membrana en la que la concentración es menor y se libera en la cara contraria generando un potencial).

Los principales tipos de ISE son:

- Electrodo de vidrio: contienen puntos aniónicos que atraen y fijan determinados cationes, cambiando la composición del vidrio se consigue variar la selectividad. Ej. el utilizado para medir el pH.
- Electrodo de membranas cristalinas: existen materiales que contienen huecos catiónicos para acomodar aniones de tamaño y carga adecuados. Ej. electrodo con membrana de fluoruro de lantano para la determinación del ión fluoruro.
- Electrodo de membrana líquida: membrana con un soporte sólido inerte al que se sobre el que se sitúa un intercambiador iónico que penetra en los poros y es responsable de la selectividad. Ej. electrodo de potasio con membrana de valinomicina (fija potasio).

Los analizadores automáticos de electrolitos suelen tener ISE y las mediciones con éstos pueden ser directas (sin dilución previa de la muestra) o indirectas (con dilución previa de la muestra).

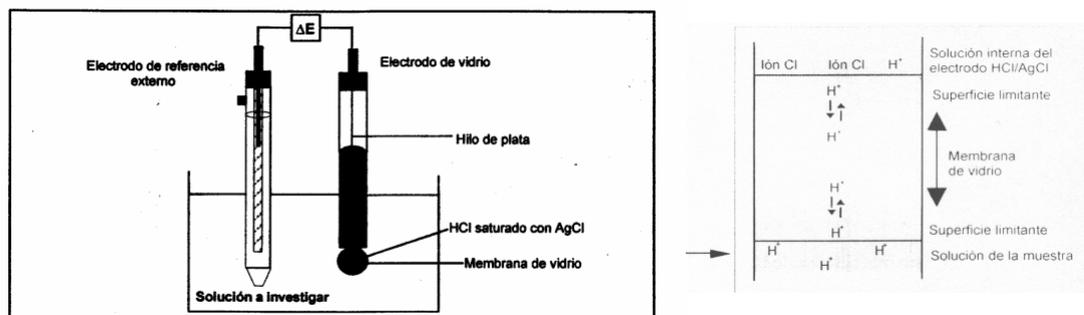
### ***Aspectos prácticos***

1. Recoger las muestras en material exento de contaminación y de un solo uso.
2. Salvo urgencia, las muestras se recogen en ayunas.
3. El análisis de electrolitos en orina se hace orina de 24 horas. En el caso de ser una muestra aislada es necesario conocer el volumen y tiempo en que se ha producido.
4. Se prefiere suero a plasma.
5. En el caso de utilizar plasma es importante elegir bien el anticoagulante ej. no utilizar oxalato ni EDTA en muestras en las que se vaya a cuantificar  $\text{Ca}^{+2}$ .

6. Se deben rechazar muestras hemolizadas ej. aumenta la concentración de  $K^+$  por liberación del ión intracelular. En general se deben procesar las muestras antes de 3h para evitar desplazamientos del ión entre el interior y el exterior de la célula.
7. Si se va a cuantificar la concentración de  $K^+$  no se debe aplicar torniquete al realizar la extracción.
8. El pH sanguíneo y la concentración de determinados iones está relacionada ej. si existe alguna alteración del equilibrio ácido-base debe solicitarse paralelamente la determinación del pH y  $Ca^{+2}$ .

## 2. Medida analítica del pH en sangre y orina.

El análisis cuantitativo del pH se realiza con una célula electroquímica constituida por un electrodo de vidrio sensible al pH y un electrodo de referencia (ej. de calomelanos). El electrodo de vidrio para medir el pH consta de una delgada membrana de vidrio en forma de bulbo "permeable" a los  $H^+$ , en cuyo interior se encuentra una solución de pH fijo ej. HCl 0.1M y un electrodo de plata cloruro de plata. El bulbo está soldado a un tubo de vidrio grueso en cuyo interior está el hilo de plata y el AgCl. El pH se determina midiendo la diferencia de potencial a través de la membrana de vidrio que separa la disolución problema de la disolución de referencia de concentración de  $H^+$  conocida (generalmente 0.1M). La diferencia de potencial es proporcional a la concentración de  $H^+$  en la disolución. Es decir, el pH-metro mide la diferencia de potencial y la representa en unidades de pH. Para establecer la relación concreta entre la diferencia de potencial y el pH es necesario calibrar el pH-metro con dos disoluciones de pH conocido ej. 7 y 4.



**En muestras de orina** es muy frecuente llevar a cabo un análisis semicuantitativo aproximado con un papel indicador (tiras reactivas): ácido cuya base conjugada presenta diferente coloración, la variación cromática es indicativa del pH (se compara con una escala colorimétrica de referencia).

Las muestras deben ser frescas, conservadas en frío (no congeladas). Con el tiempo aumenta el pH por pérdida de  $CO_2$  y crecimiento bacteriano (formación de  $NH_3$  a partir de urea).

### 3. Determinación de gases en sangre

El análisis de gases en sangre (gasometría) tiene como finalidad evaluar el estado ácido-base y el estado de oxigenación respiratoria del paciente.

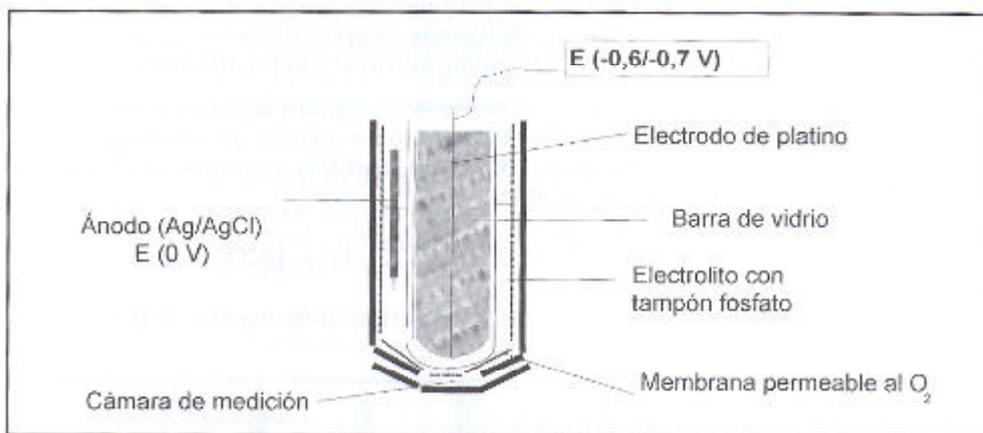
Este análisis incluye la determinación del

- pH: mediante un electrodo de vidrio
- $P_{O_2}$ : mediante el electrodo de Clark
- $P_{CO_2}$ : mediante el electrodo de Severinghaus

#### **Determinación de $P_{O_2}$ en sangre**

La  $P_{O_2}$  en sangre es la presión ejercida por el  $O_2$  disuelto en el plasma y no debe confundirse con la cantidad de  $O_2$  unido a la hemoglobina o la cantidad total de  $O_2$ . El resultado de la determinación se expresa en mm Hg.

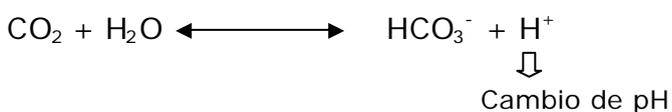
Para esta determinación se utiliza el electrodo de Clark: el oxígeno de la muestra difunde a través de una solución electrolítica hacia el cátodo donde se reduce originando un cambio de intensidad de corriente entre ánodo y cátodo directamente proporcional a la  $PO_2$ .



Electrodo de Clark

#### **Determinación de $P_{CO_2}$ en sangre**

La  $P_{CO_2}$  es la presión ejercida por el  $CO_2$  libre en plasma. Para su determinación se utiliza el electrodo de Severinghaus, aplicación especial del electrodo para pH. El  $CO_2$  de la muestra difunde a través de una membrana (que sólo permite el paso de  $CO_2$ ) hasta una solución tamponada de bicarbonato sódico originando en ésta un cambio de pH que es detectado por el electrodo de vidrio.



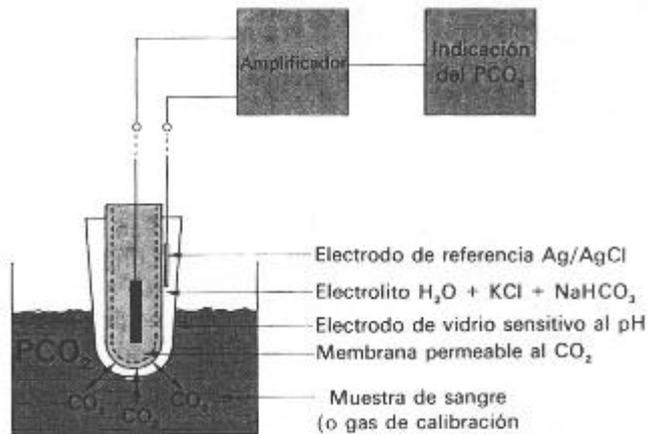


Diagrama de la cadena de medida de pCO<sub>2</sub>.

### **Analizadores automáticos de pH y gases**

Los *analizadores automáticos* de pH y gases son aparatos que miden el pH, pCO<sub>2</sub> y pO<sub>2</sub> mediante electrodos específicos y a partir de estas medidas calculan diversas magnitudes derivadas relacionadas con el equilibrio ácido-básico en sangre. Para evitar errores en la determinación debidos a fluctuaciones de la temperatura la muestra se termostatiza a 37°C. En estos analizadores es necesario calibrar tanto el pH como la P<sub>O<sub>2</sub></sub> y P<sub>CO<sub>2</sub></sub> utilizando disoluciones tampón de pH conocido y gases con P<sub>O<sub>2</sub></sub> y P<sub>CO<sub>2</sub></sub> concretas. Las principales causas de error son:

- entrada de aire en la muestra
- demora al realizar el análisis.

### **Monitorización transcutánea**

Los gases sanguíneos se pueden cuantificar de forma continua mediante monitorización transcutánea con minielectrodos: la piel se arterioliza utilizando calor para dilatar la microvasculatura y aumentar el flujo capilar (sus valores de P<sub>O<sub>2</sub></sub> y P<sub>CO<sub>2</sub></sub> son muy similares a los de la sangre arterial) permitiendo que el O<sub>2</sub> y el CO<sub>2</sub> difundan a través de la piel.

### **Aspectos prácticos para la determinación de gases y pH:**

1. El paciente debe estar tranquilo y en reposo: la hiperventilación provoca alcalosis. Se deben evitar los torniquetes por que aumenta la P<sub>CO<sub>2</sub></sub> y disminuye la P<sub>O<sub>2</sub></sub>.
2. El resultado del pH depende del tipo de muestra (capilar, arterial o venosa). La muestra más adecuada es la sangre arterial.
3. La muestra debe introducirse en hielo y procesarse con inmediatez (30 minutos en determinaciones de pH y 15 minutos en determinaciones de gases). Con el tiempo disminuye el pH y la P<sub>O<sub>2</sub></sub> y aumenta la P<sub>CO<sub>2</sub></sub>. El metabolismo intraeritrocitario se puede inhibir durante 3 horas si se conserva la muestra a 4°C.
4. El anticoagulante debe ser heparina sódica.
5. Para la extracción de la muestra se pueden utilizar jeringas de cristal heparinizadas o jeringas de polipropileno (las de poliestireno dejan

escapar gases) y los torniquetes deben ser suaves (el torniquete disminuye la  $P_{O_2}$  y el pH y aumenta la  $P_{CO_2}$ . En la extracción de la muestra se debe evitar la formación de burbujas y los escapes de gas doblando la aguja o sellándola.

### Preguntas de revisión

1. ¿Qué muestra, suero o plasma, se suele utilizar para analizar la concentración de un determinado electrolito? ¿por qué?
2. ¿Qué electrolito vería más afectada su concentración en una muestra hemolizada?
3. El análisis de electrolitos en orina ¿se lleva a cabo habitualmente en una muestra aislada?
4. El fundamento de la espectrofotometría de absorción atómica es:
  - a) absorción de radiación electromagnética por los átomos neutros en la llama
  - b) absorción de radiación electromagnética por los átomos excitados en la llama
  - c) emisión de radiación electromagnética por los átomos neutros en la llama
  - d) emisión de radiación electromagnética por los átomos excitados en la llama
5. El fundamento de la fotometría de emisión de llama es:
  - a) absorción de radiación electromagnética por los átomos neutros en la llama
  - b) absorción de radiación electromagnética por los átomos excitados en la llama
  - c) emisión de radiación electromagnética por los átomos neutros en la llama
  - d) emisión de radiación electromagnética por los átomos excitados en la llama
6. En la fotometría de emisión de llama, la luz que se detecta:
  - a) es directamente proporcional al número de átomos en la llama
  - b) es directamente proporcional a la concentración del ión en la muestra
  - c) corresponde a una pequeña proporción de átomos excitados
  - d) a, b y c son correctas
  - e) a y b son correctas.
7. La llama de un fotómetro de llama:
  - a) equivale a la lámpara de un fotómetro de absorción
  - b) equivale a la lámpara y el monocromador de un fotómetro de absorción
  - c) necesita una temperatura suficiente para excitar los átomos
  - d) se consigue con distintos gases según la temperatura deseada.
  - e) a, c y d son correctas
8. En la fotometría de llama el estándar interno se emplea:
  - a) introduciéndolo en las diluciones de estándares y problemas
  - b) como señal de referencia frente a la que se va a medir
  - c) cualquier elemento es útil como estándar interno
  - d) a y b son correctas
  - e) para intensificar la señal
9. ¿Qué método es más sensible la espectrofotometría de absorción atómica o la fotometría de emisión de llama? ¿Por qué?
10. En un espectrofotómetro de absorción atómica la lámpara de cátodo hueco:
  - a) es la fuente de luz en las medidas por absorción atómica
  - b) está basada en la emisión de luz de longitud de onda característica por un elemento que se quiere medir

- c) está construída con el elemento que se quiere medir
- d) emite el espectro de líneas del elemento a medir
- e) todas son ciertas

11. Oscilaciones en la temperatura de la llama afectan principalmente a los valores obtenidos en la:

- a) espectrofotometría de emisión de llama
- b) espectrofotometría de absorción atómica

12. ¿Cómo se minimiza el efecto de dichas oscilaciones?

13. ¿Qué funciones cumple la llama en la espectrofotometría de emisión de llama?

14. ¿Qué es un electrodo indicador?

15. ¿Qué es un electrodo de referencia?

16. Cite dos electrodos de referencia

17. ¿Qué es un electrodo ión-selectivo?

18. ¿Qué tipo de electrodo ión-selectivo se utiliza en un pH-metro?

19. ¿Para qué es necesario calibrar un pH-metro?

20. Si se quiere realizar un análisis de gases en sangre ¿Por qué no se puede tomar la muestra de sangre con una jeringa de poliestireno? ¿por qué es necesario procesar la muestra con inmediatez?

21. En caso de que entrara una burbuja de aire en la muestra ¿cómo afectaría al resultado de la  $P_{O_2}$  y  $P_{CO_2}$ ?

22. Si el paciente hiperventila durante la extracción de sangre ¿cómo se vería afectado el pH de la muestra? Justifique su respuesta.

23. ¿Cómo se determina la  $P_{CO_2}$ ? Describa el fundamento del aparato utilizado

24. ¿Con qué electrodo se determina la  $P_{O_2}$ ?