

Ανάλυση με έγχυση του δείγματος σε συνεχή ροή (Flow Injection Analysis, FIA)

Η ιστορική εξέλιξη των αυτόματων μεθόδων ανάλυσης

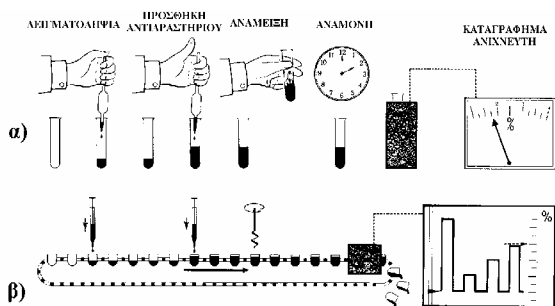
- Κλασική ανάλυση



- Ασυνεχής αυτόματη ανάλυση



- Ανάλυση συνεχούς ροής

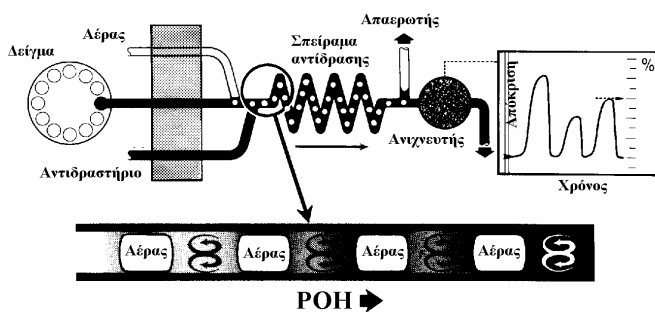


?

Τα πλεονεκτήματα των αυτόματων μεθόδων ανάλυσης

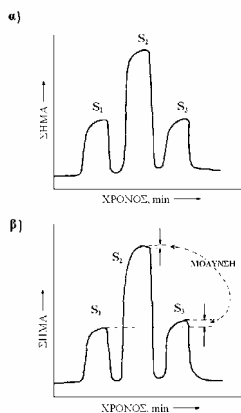
- Αυτοματισμός
- Ταχύτητα
- Κόστος
- Μείωση κατανάλωσης αντιδραστηρίων
- Βελτίωση ακρίβειας και επαναληψιμότητας
- Ελαχιστοποίηση επιμολύνσεων

Αυτόματη αεριοδιαχωριζόμενη ανάλυση συνεχούς ροής (segmented flow analysis, SFA)



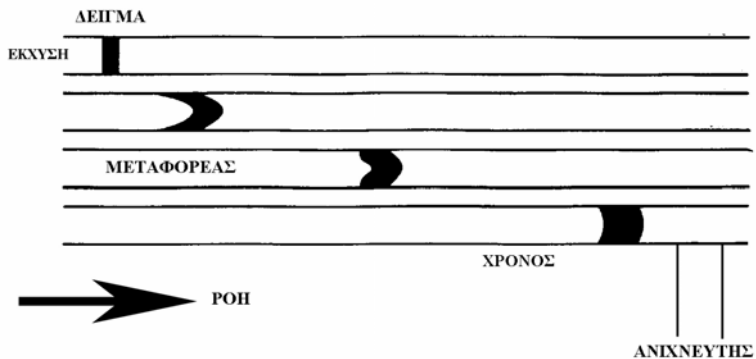
Μειονεκτήματα

- α) πιθανότητα επιμόλυνσης διαδοχικών δειγμάτων
- β) πολυπλοκότητα του απαερωτή



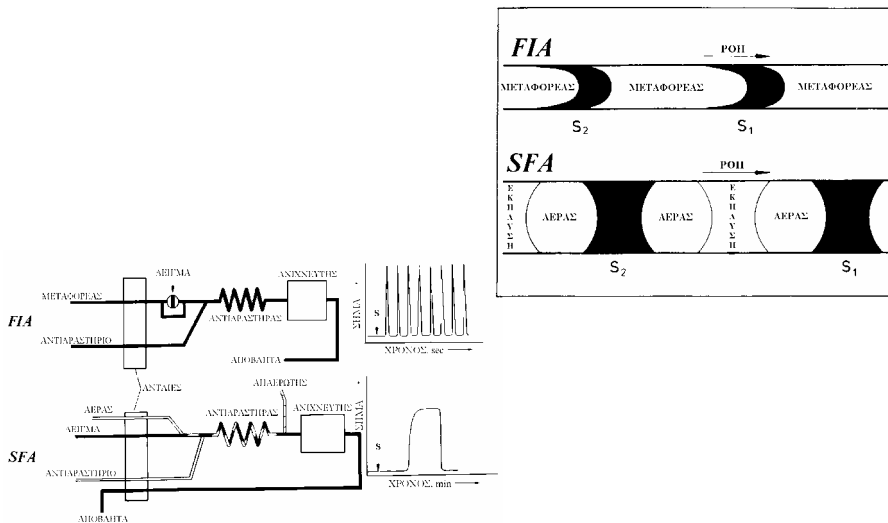
Ανάλυση με έγχυση του δείγματος σε συνεχή ροή (Flow Injection Analysis, FIA)

- Η ανάλυση με έγχυση του δείγματος σε συνεχή ροή (flow injection analysis, FIA) βασίζεται στην έγχυση ενός υγρού δείγματος μέσα σε ένα κινούμενο ρεύμα υγρού μεταφοράς (carrier).
- Η ζώνη του δείγματος μεταφέρεται από το ρεύμα του μεταφοράς σε έναν ανιχνευτή που καταγράφει τη μεταβολή κάποιας φυσικής ή χημικής παραμέτρου.



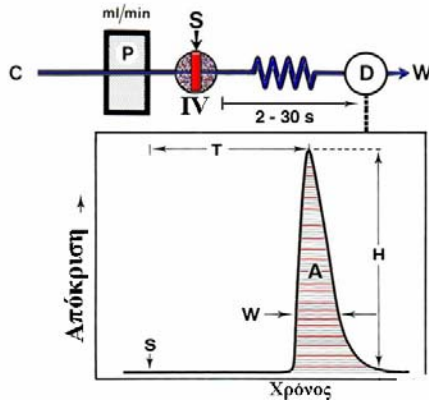
Αλλαγές στην FIA σε σχέση με τη SFA

- Κατάρνηση ρεύματος αέρα και απαερωτή
- Εισαγωγή δείγματος με βαλβίδα έγχυσης σε ρεύμα μεταφοράς



Ένα απλό σύστημα FIA

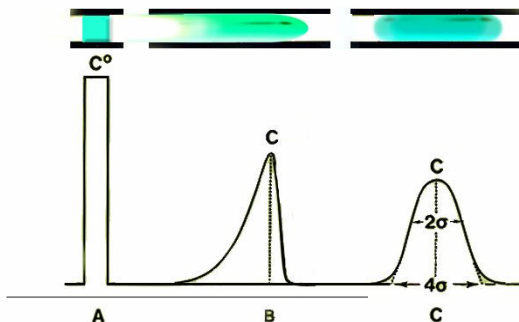
- Ένα απλό σύστημα FIA αποτελείται από μια αντλία (pump, P) που προωθεί το μεταφορέα (C), μια βαλβίδα έγχυσης (injection valve, IV) ένα σπείραμα αντίδρασης (reaction coil, RC) και έναν ανιχνευτή (detector, D)
- Η απόκριση του ανιχνευτή έχει τη μορφή κορυφής



Το ύψος της κορυφής (H) είναι ανάλογο της συγκέντρωσης του αναλύτη στο δείγμα

Τι είναι διασπορά (dispersion)?

- Διασπορά είναι η αραίωση του δείγματος που προκαλείται κατά την κίνηση του προς τον ανιχνευτή
- Αμέσως μόλις το δείγμα εγχύεται, η συγκέντρωσή του έχει τη μορφή ζώνης (A). Καθώς το δείγμα αρχίζει να κινείται προς τον ανιχνευτή περνά από μια διαδοχική σειρά σταδίων αραίωσης, και η μορφή του μετατρέπεται από ασύμμετρη (B) σε συμμετρική κατά Gauss (C)



Συντελεστής διασποράς
(Dispersion coefficient)

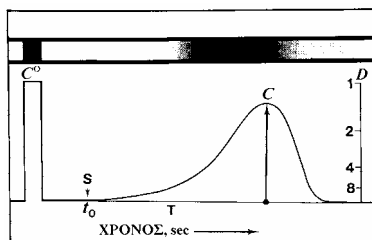
$$D = \sigma^2 / C$$

Χαμηλός ($D=1-2$)

Μέσος ($D=2-10$)

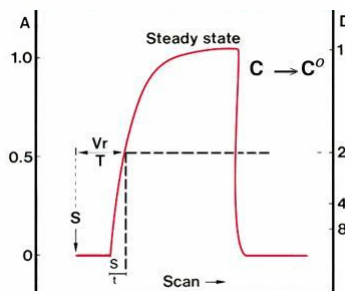
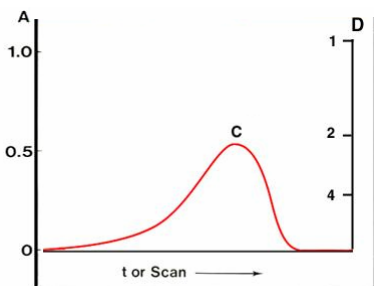
Υψηλός ($D=10-10000$)

Περισσότερα για τη διασπορά



Συνήθως απαιτείται μέση διασπορά ($D=2-10$)

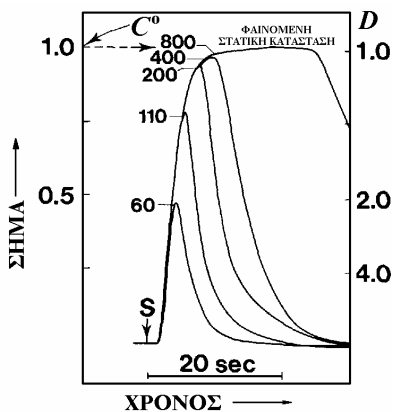
Σε κάποιες περιπτώσεις επιζητούμε χαμηλή διασπορά ($D=1-2$)



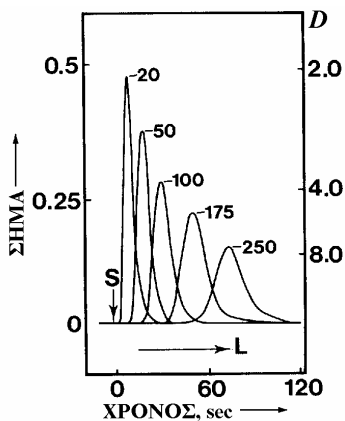
Περισσότερα για τη διασπορά

Η διασπορά εξαρτάται από διάφορες μεταβλητές:

1. Το μήκος του σπειράματος αντίδρασης
2. Τον όγκο του δείγματος



Διασπορά με διαφορετικούς όγκους δείγματος (60-800 μl)

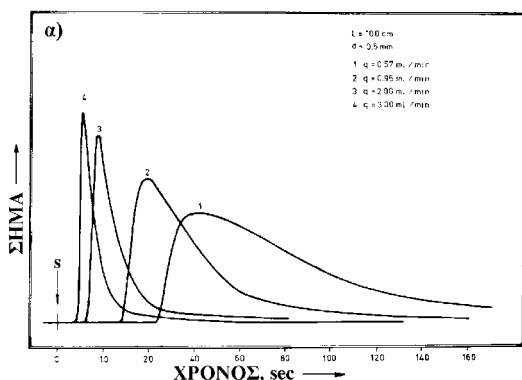


Διασπορά με διαφορετικά μήκη σπειράματος (20-250 cm)

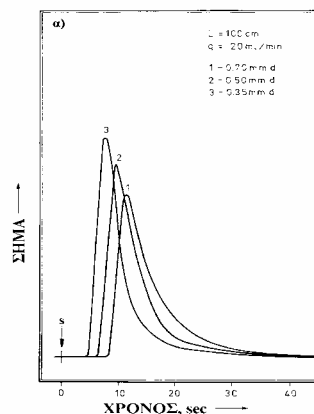
Περισσότερα για τη διασπορά

Η διασπορά εξαρτάται από διάφορες μεταβλητές

3. Τη ταχύτητα ροής του μεταφορέα
4. Τη γεωμετρία των σωληνώσεων ροής



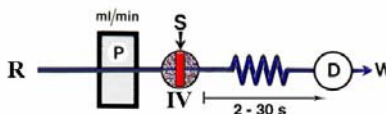
Διασπορά με διαφορετικές ταχύτητες ροής (0.57-3 ml min⁻¹)



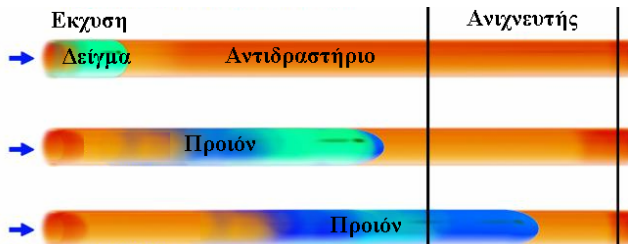
Διασπορά με σπείραμα διαφορετικής διαμέτρου (0.7-0.35 mm i.d.)

Χημικές αντιδράσεις στη FIA

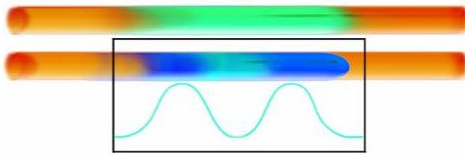
Αν ο αδρανής μεταφορέας (C) αντικατασταθεί από ένα αντιδραστήριο (R), που αντιδρά με τον αναλύτη, λαμβάνει χώρα μια χημική αντίδραση σε ροή



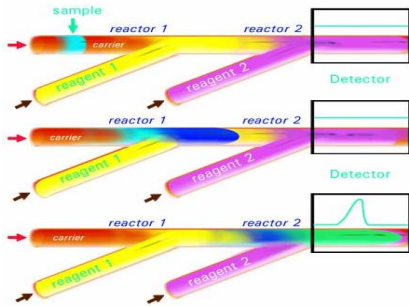
Το σήμα του ανιχνευτή θα αντανακλά το συνδυασμό δύο αντίθετων φαινομένων: α) τη φυσική διασπορά του δείγματος μέσα στο μεταφορέα-αντιδραστήριο (που προκαλεί αραίωση του δείγματος και αυξάνεται καθώς το δείγμα κινείται προς τον ανιχνευτή), β) τη χημική αντίδραση μεταξύ αναλύτη και μεταφορέα-αντιδραστήριου (που προκαλεί αύξηση της συγκέντρωσης του προϊόντος της αντίδρασης καθώς το δείγμα κινείται προς τον ανιχνευτή)



Πολυκάναλα συστήματα FIA



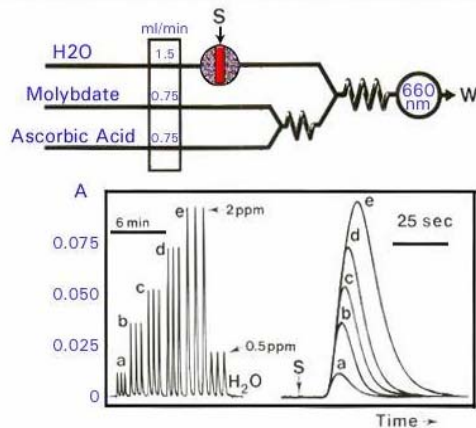
Τα μονοκάναλα συστήματα FIA δεν επιτυγχάνουν πάντα καλή ανάμιξη δείγματος-αντιδραστήριου (δημιουργούνται διπλές κορυφές)



Όταν απαιτείται η χρήση πολλαπλών αντιδραστήριων προτιμάται η χρήση πολυκάναλων συστημάτων με σημεία ανάμιξης (confluence points)

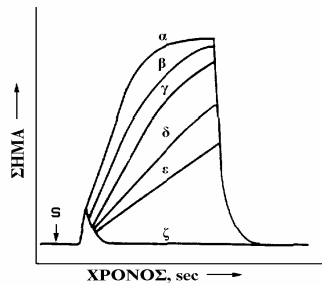
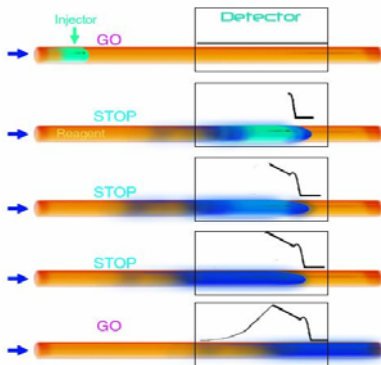
Μια τυπική εφαρμογή πολυκάναλου συστήματος FIA

Ο προσδιορισμός φωσφορικών ιόντων βασίζεται στην αντίδρασή τους με μολυβδαινικά ιόντα για την παραγωγή μολυβδαινοφωσφορικού οξέος το οποίο στη συνέχεια ανάγεται με ασκορβικό οξύ προς «κυανό του μολυβδαινίου»



FIA αναχαιτιζόμενης ροής (stopped-flow FIA)

- Για την αντιμετώπιση του παραπάνω προβλήματος αναπτύχθηκε η μέθοδος της αναχαιτιζόμενης ροής (stopped-flow FIA).
- Στη τεχνική αυτή, όταν το δείγμα φτάσει στον ανιχνευτή, διακόπτεται η ροή για κάποιο χρονικό διάστημα. Έτσι, μειώνεται η διασπορά του δείγματος και ταυτόχρονα βελτιώνεται η μίξη του μεταφορέα-αντιδραστήριου με το δείγμα



Αναχαιτιζόμενη ροή για αυξανόμενο χρόνο (από ζ μέχρι α)

Βελτιστοποίηση των παραμέτρων στη FIA

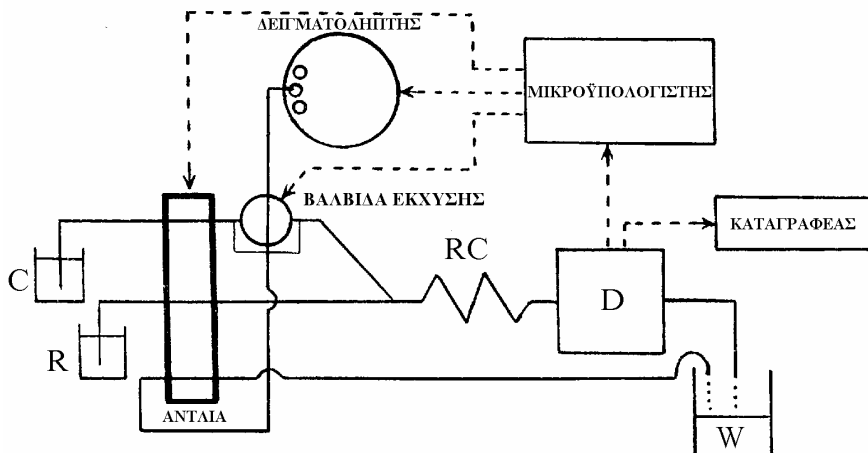
- Συγκέντρωση των αντιδραστηρίων
- pH
- Παροχές των υγρών
- Μήκος σπειραμάτων αντίδρασης
- Όγκος δείγματος
- Γεωμετρικές παράμετροι του συστήματος

Τα πλεονεκτήματα της FIA

- Αυτοματισμός
- Μεγάλη συχνότητα μετρήσεων
- Ακρίβεια και επαναληψιμότητα
- Ευελιξία στην διαχείριση του δείγματος (μέσω ελέγχου της διασποράς)
- Ευρεία εφαρμοσιμότητα
- Μικρή κατανάλωση δείγματος και αντιδραστηρίων
- Ελαχιστοποίηση επιμόλυνσης

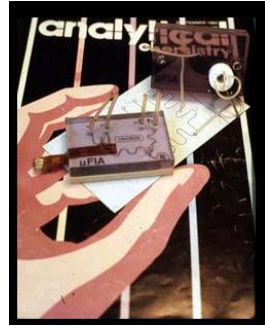
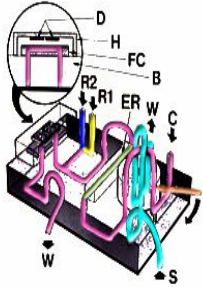
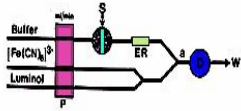
Αυτοματοποίηση στη FIA

Σύστημα FIA ελεγχόμενο από υπολογιστή



ΦΙΑ και μικροκατασκευασμένα συστήματα (microfluidics)

- Προσδιορισμός σακχάρων με χρήση ενζυμικής αντίδρασης και ανιχνευτή χημειοφωταύγειας



Αντλίες στη ΦΙΑ

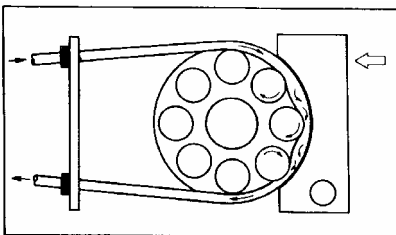
Οι περισταλτικές αντλίες είναι οι ευρύτερα διαδεδομένες αντλίες στη ΦΙΑ.

Πλεονεκτήματα:

- Απλές και φθηνές
- Δε χρειάζονται πλήρωση

Μειονεκτήματα:

- Ροή όχι συνεχής (παλμοί)
- Μικρή σταθερότητα ροής



Αντλίες σύριγγας

Πλεονεκτήματα:

- Συνεχής ροή χωρίς παλμούς
- Σταθερή ροή

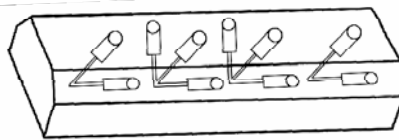
Μειονεκτήματα:

- Χρειάζονται συχνή πλήρωση

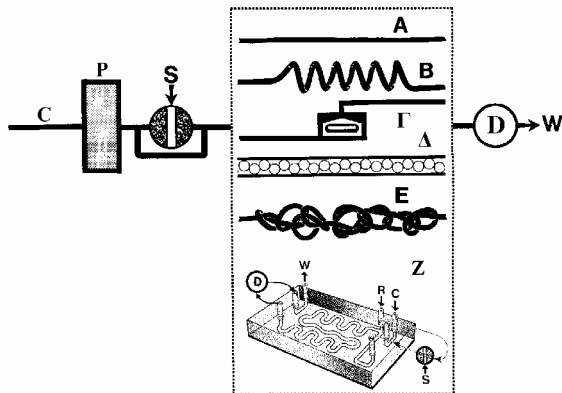


Μίκτες και σπειράματα αντίδρασης στη FIA

Στα πολυκαναλικά συστήματα χρειάζονται διατάξεις ανάμιξης



Το σπείραμα αντίδρασης μπορεί να έχει διάφορες μορφές



Ανιχνευτές FIA

Ηλεκτροχημικοί

- α) βολταμετρικοί
- β) ποτενσιομετρικοί
- γ) πεχαμετρικοί

Οπτικοί

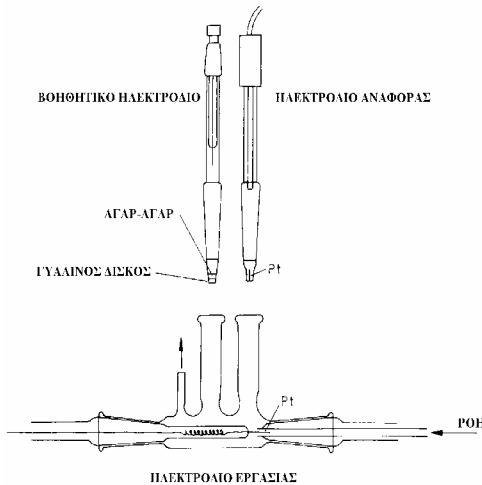
- α) μοριακής απορρόφησης
- β) χημειοφωταύγειας
- γ) μοριακής εκπομπής-φθορισμού
- δ) ατομικής εκπομπής
- ε) ατομικής απορρόφησης

Άλλοι

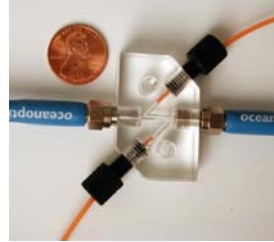
- α) φασματομετρίας υπερύθρου
- β) φασματομετρίας Raman
- γ) φασματομετρίας μάζας

Ανιχνευτές στη FIA

Ποτενσιομετρικός ανιχνευτής ροής



Κυψελίδα για φωτομετρική ανίχνευση



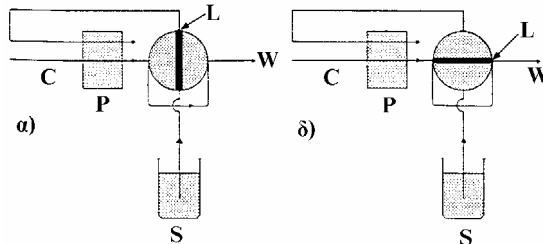
Κυψελίδα για φθορισμομετρική ανίχνευση



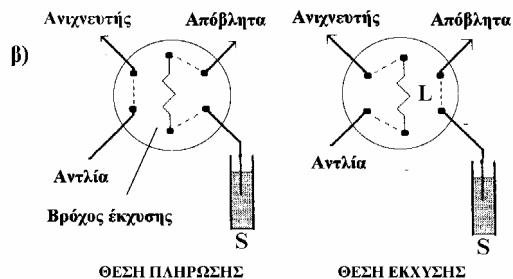
Βαλβίδες δειγματοληψίας στη FIA

Οι βαλβίδες εισαγωγής δείγματος μπορεί να είναι:

α) Απλές περιστροφικές (ο όγκος καθορίζεται από τη βαλβίδα)



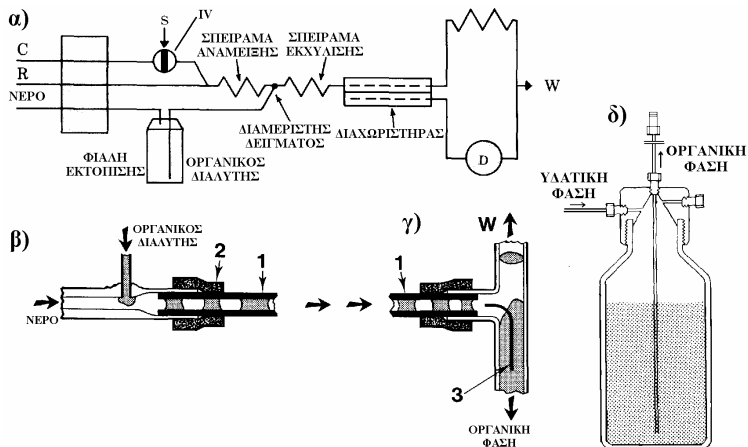
β) Βαλβίδες πολλαπλών θέσεων (ο όγκος καθορίζεται από το βρόχο έγχυσης)



Εκχύλιση υγρού-υγρού με FIA

Μία τυπική συνδεσμολογία περιλαμβάνει, επιπλέον των άλλων, μια αντλία εκτόπισης(δ), ένα διαμεριστή δείγματος (β), ένα διαχωριστήρα (γ) και μια φιάλη εκτόπισης (δ). Πλεονεκτήματα:

1. Μικρή κατανάλωση οργανικού διαλύτη
2. Μεγάλη προσυγκέντρωση του προσδιοριζόμενου συστατικού.

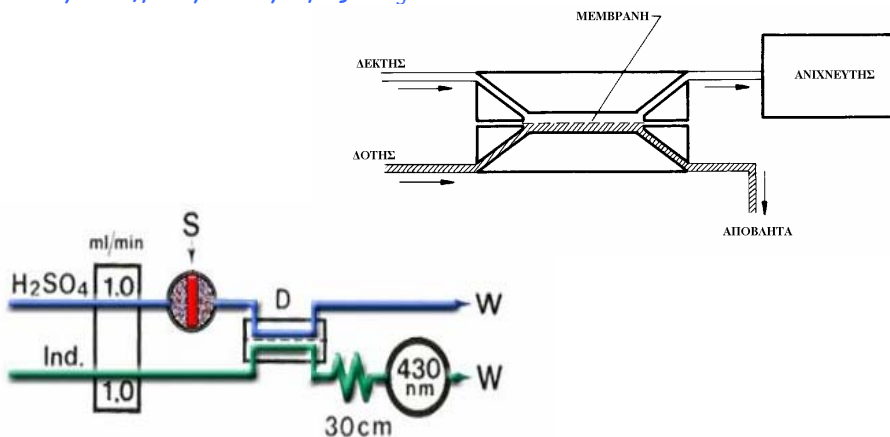


Διάχυση αερίων με FIA

Στη τεχνική της διάχυσης αερίων η διάχυση του αερίου, από το ρεύμα του δείγματος (δότης) στο ρεύμα του αντιδραστήριου (δέκτης), γίνεται διά μέσου μιας υδρόφοβης πορώδους και διαπερατής μεμβράνης από teflon.

Το πλεονέκτημα της τεχνικής αυτής είναι ότι αυξάνεται σημαντικά η εκλεκτικότητα του προσδιορισμού

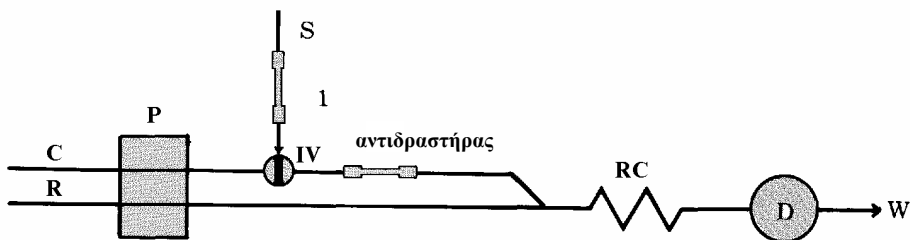
Παράδειγμα προσδιορισμός CO_3^{2-}



Πληρωμένοι αντιδραστήρες στη FIA

Ως πληρωμένοι αντιδραστήρες μπορούν να χρησιμοποιηθούν:

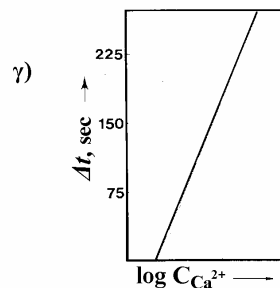
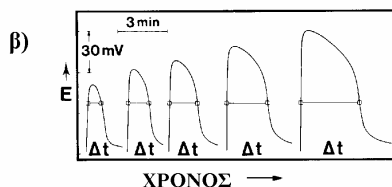
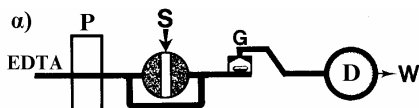
1. Στήλες ιονανταλλαγής (για την προσυγκέντρωση του προσδιοριζόμενου συστατικού, την απομάκρυνση των ουσιών που παρεμποδίζουν ή τη μετατροπή του προσδιοριζόμενου συστατικού σε μετρήσιμο προϊόν)
2. Στήλες ενζύμων με ακινητοποιημένα ένζυμα που χρησιμοποιούνται για την εκλεκτική αποικοδόμηση υποστρωμάτων σε μετρήσιμα προϊόντα.
3. Οξειδοαναγωγικές στήλες που είναι πληρωμένες με οξειδωτικά ή αναγωγικά σώματα, και οι οποίες χρησιμοποιούνται για την επιτόπια παραγωγή αντιδραστηρίων
4. Χρωματογραφικές στήλες διαχωρισμού ή στήλες εκχύλισης στερεής φάσης



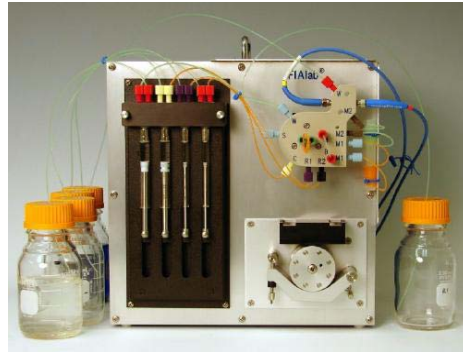
Ογκομετρήσεις με FIA

Ποτενσιομετρική ογκομέτρηση ιόντων Ca^{2+} με πρότυπο διάλυμα EDTA: το δείγμα S (ίοντα Ca^{2+}) εγχύεται στο ρεύμα του μεταφορέα (EDTA), και το προϊόν αντίδρασης οδηγείται προς τον ανιχνευτή D, δια μέσου του θαλάμου ανάμειξης G.

Αποδεικνύεται ότι: το πλάτος της κορυφής είναι ανάλογο με το λογάριθμο της συγκέντρωσης των ιόντων Ca^{2+} .



Τυπικά συστήματα FIA



Πεδία εφαρμογής FIA

- *Περιβάλλον*
- *Κλινική ανάλυση*
- *Βιοανάλυση*
- *Βιοτεχνολογία*
- *Ανοσολογική ανάλυση*
- *Φαρμακευτική ανάλυση*
- *Τρόφιμα*
- *Βιομηχανική ανάλυση*

Βιβλιογραφία

Μονογραφίες (στα αγγλικά)

W. Frenzel, Flow Injection Analysis. Principles, Techniques and Applications. Technical Univ. Berlin Berlin, Germany, 1993.

B. Karlberg and G. E. Pacey, Flow Injection Analysis. A Practical Guide. Elsevier Sci. Publ. Co., Inc., The Netherlands, 1989 (ISBN 0-444-88014-3).

M. Valcarcel and M. D. Luque de Castro, Flow-Injection Analysis. Principles and Applications. (Translation of Ref. 665. Translated by A. Losada). Ellis Horwood Ltd., England, (1987). (ISBN 0-85312-904-5).

Z. L. Fang, Flow-Injection Separation and Preconcentration. Publ.: VCH Verlags- gesellschaft mbh, Weinheim, Germany, 1993.

Ruzicka and E. H. Hansen, Flow Injection Analysis. Second Edition. John Wiley & Sons, Inc, New York, USA, 1988 (ISBN 0-471-81355-9)."

J. Ruzicka and E. H. Hansen, Flow Injection Analysis. John Wiley & Sons, Inc., New York, USA, (1981). (ISBN 0 471-08192-2).

Μονογραφία (στα ελληνικά)

Δ.Γ. Θεμελή, Αυτόματες Μέθοδοι Χημικής Ανάλυσης, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη, 1998

Ιστοσελίδα

www.flowinjection.com