

## FLOW INJECTION ANALYSIS

V. V. KUZNETSOV

*Flow injection analysis is one of the best ways for automatic analysis of solutions. It is based on injection of a sample into a carrier stream of a reagent where an analytical reaction occurs. The analysed concentration is measured as a detector signal. The method is notable for high productivity, precision, and flexibility.*

**Проточно-инжекционный анализ – один из лучших методов автоматического анализа растворов, основанный на введении пробы в поток реагента, создаваемый в жидкостных коммуникациях прибора и проведении аналитической реакции в нем. Концентрацию определяемого компонента находят по сигналу детектора. Метод отличают высокая производительность, гибкость в решении разнообразных практических задач, точность результатов.**

## ПРОТОЧНО-ИНЖЕКЦИОННЫЙ АНАЛИЗ

В. В. КУЗНЕЦОВ

Российский химико-технологический университет  
им. Д.И. Менделеева, Москва

### ВВЕДЕНИЕ

В решении важных прикладных задач современной аналитической химии часто приходится выполнять большое число отдельных определений. Это характерно, например, при определении загрязняющих веществ в окружающей среде, в клинических лабораториях, при выполнении биохимических исследований. Большую роль здесь призваны сыграть автоматические методы химического анализа, использующие современную идеологию и средства аналитической и микропроцессорной техники. Развитие автоматических методов анализа стимулируется повышением надежности и экономичности анализа при уменьшении его стоимости, оперативностью получения большого объема точной аналитической информации. Поскольку данных приходится обрабатывать много, удобно использовать соответствующую микропроцессорную технику – в современных приборах компьютер составляет часть прибора. Такие приборы должны быть пригодны для автоматического выполнения важнейших стадий аналитического определения: отбор пробы, перевод ее в форму, удобную для проведения анализа, – в раствор, проведение аналитической реакции, измерение количества продукта этой реакции.

Существуют два подхода к автоматизации аналитических определений в растворах. Реализуя первый, стремятся создать автоматический анализатор, который бы полностью или частично выполнял обычные аналитические работы. Это сложно и дорого. Можно поступить проще и сконструировать прибор, автоматически выполняющий только одну важнейшую аналитическую операцию – собственно измерительную, например титрование. Соответствующие приборы называют титраторами.

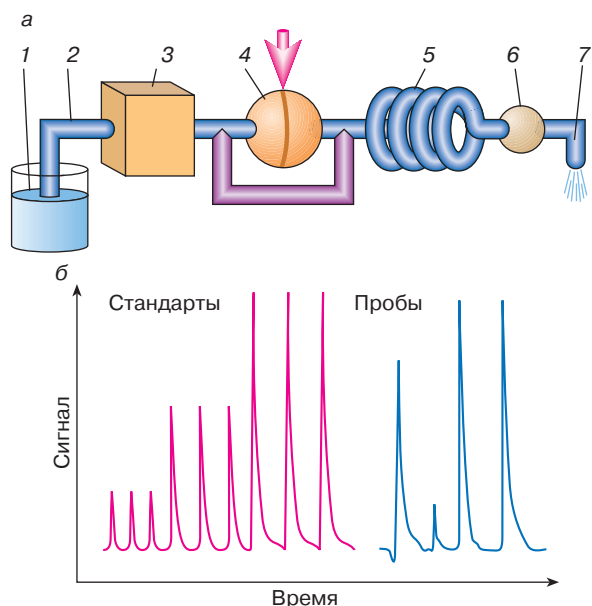
Более удачным оказался второй, принципиально иной подход, основанный на идее непрерывного анализа. Здесь анализируемый раствор непрерывно перемещается с помощью перистальтического насоса по жидкостным коммуникациям прибора – чаще всего это просто система стеклянных или пластиковых трубок. При этом к нему добавляются необходимые реактивы, и сама аналитическая реакция протекает в потоке. Определение концентрации продукта аналитической реакции – аналитический сигнал – осуществляется непрерывно с помощью детектора, когда участок потока с продуктом реакции проходит его. Сигнал регистрируется прибором в виде

пики. В этом случае наиболее просто достигаются условия, обеспечивающие воспроизводимость проведения аналитических реакций и измерений. Способ оказался удобным, простым и эффективным.

Еще более удачным оказался метод непрерывного анализа, предложенный в 1974 году Ружичкой и Хансеном и названный ими проточно-инжекционным (flow injection analysis). Развитие аналитической химии показало, что проточно-инжекционный анализ (ПИА) оказался, по-видимому, наилучшим способом автоматизации химического анализа растворов и завоевал широкие области применения.

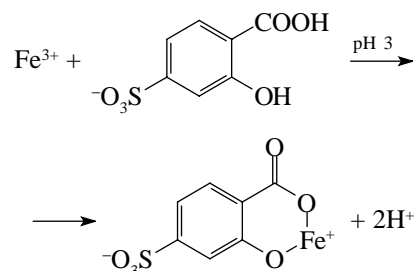
## ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ ПРОТОЧНО-ИНЖЕКЦИОННОГО АНАЛИЗА

Проточно-инжекционный анализ основан на вводе (инъекции) небольшого объема пробы в создаваемый перистальтическим насосом неразрывный, как часто говорят несегментированный, ламинарный поток носителя, содержащего необходимые для протекания аналитической реакции реагенты. Идею метода иллюстрирует рис. 1. Ружичка и Хансен первоначально вводили пробу в поток с помощью микрошприца вручную, прокалывая иглой небольшой участок трубопровода, выполненный из резины. На рис. 1 условно показан ввод пробы посредством дозирующего крана. Этот способ оказался более перспективным, он поддается автоматизации и используется ныне повсеместно. Допустим далее,



**Рис. 1.** Принципиальная схема проточно-инжекционного анализа (а) и характер регистрируемых сигналов (б): 1 – раствор носителя и реагента, 2 – трубопровод, 3 – перистальтический насос, 4 – дозатор, 5 – смешительная (реакционная) спираль, 6 – детектор, 7 – слив

что осуществляется проточно-инжекционное спектрофотометрическое определение Fe(III). В этом случае поток носителя будет содержать реагент на этот элемент, например сульфосалициловую кислоту, и буферный раствор, поддерживающий pH ~ 3. При инжестировании 20–30 мкл пробы, содержащей Fe(III), в растворе носителя с аналитическим реагентом и буферным раствором происходит аналитическая реакция, сопровождающаяся образованием окрашенного циклического комплекса – хелата:



Инжестированный образец образует в потоке носителя некую окрашенную зону, границы которой контролируются в основном диффузией. Времени для этого достаточно, поскольку зона образца проходит смешительную спираль анализатора. Это приводит к некоторому размыванию или, как говорят химики-аналитики, дисперсии пробы. Детектор, в который далее поступает зона образца, содержащая уже продукт реакции, непрерывно регистрирует свойство продукта реакции. Это может быть, как, например, на рис. 1, а, поглощение окрашенного раствора, или же его флуоресценция, потенциал индикаторного электрода, или любое другое измеряемое физическое свойство. Результат одного цикла анализа регистрируется самописцем в виде характерного острого пика, так как объем детектора мал, обычно ~ 10 мкл. Высота пика пропорциональна концентрации определяемого элемента в пробе. Сканирование одного пика занимает всего несколько секунд, реже минуту. Следовательно, не составляет проблем проанализировать 120–200 проб в 1 ч. Отметим, что это обычная стандартная производительность в ПИА (в других методах анализа растворов этого достигнуть невозможно). Если объемную скорость потока носителя поддерживать постоянной, чего нетрудно добиться используя так называемые перистальтические насосы, то время нахождения пробы в проточной системе, то есть в сущности время протекания реакции, и в детекторе будет для всех проб практически одним и тем же – хорошо воспроизводимым – от образца к образцу. Поэтому все сигналы будут измеряться при одних и тех же условиях. Это гарантирует хорошую воспроизводимость регистрируемых пиков и, следовательно, получаемых далее аналитических результатов.

Как видно из рис. 1, б, вводя поочередно в анализатор серию растворов с известной переменной концентрацией определяемого элемента, можно

построить градуировочную зависимость. Далее, используя ее, анализируют реальные пробы. Для создания потока носителя в ПИА используют исключительно перистальтические насосы, что позволяет разрабатывать различные конфигурации проточных систем. Таким образом, как видно из рис. 1, а, основные элементы проточно-инжекционного анализатора включают перистальтический насос, систему жидкостных коммуникаций, дозатор для ввода пробы, смесительную спираль, детектор, регистрирующее устройство.

### ОСОБЕННОСТИ ПРОТОЧНО-ИНЖЕКЦИОННОГО АНАЛИЗА

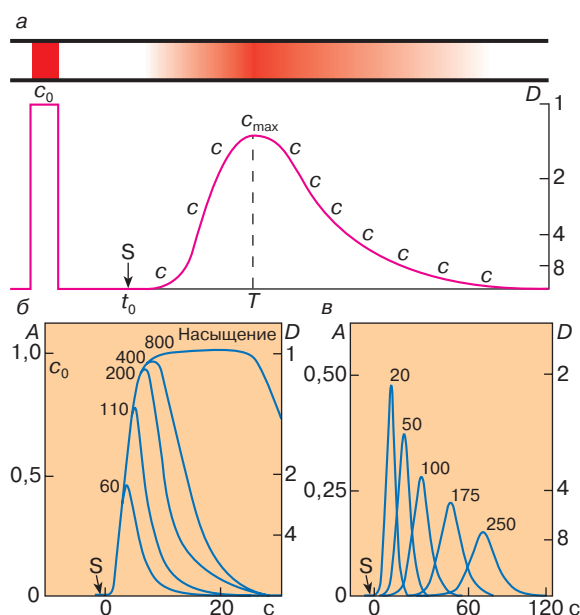
Для ПИА характерна строгая воспроизводимость условий выполнения измерений – время нахождения пробы в проточной системе и постоянство гидродинамических условий в ней и в детекторе постоянно, что гарантирует хорошую воспроизводимость аналитических результатов. Относительное стандартное отклонение (отношение случайной погрешности результата к среднему арифметическому) здесь составляет не более 0,005 (доли процента от измеряемой величины). С химической точки зрения важно, что в проточных условиях аналитические реакции, как правило, не доходят до конца. Детектирование сигнала осуществляется в так называемом стационарном состоянии. Поскольку условия работы поддерживаются строго постоянными как для стандартов, так и для проб (температура и явление дисперсии постоянны), достигается уникальная воспроизводимость в измерении сигналов.

Конечно, при введении пробы в поток носителя происходит ее физическое разбавление, которое количественно характеризуют коэффициентом дисперсии. Если ли бы дисперсии не было, детектор зарегистрировал бы прямоугольный пик, как это показано на рис. 2, а. Поскольку это не так, регистрируемый пик размывается и на практике регистрируется некая несимметричная кривая с максимумом. Коэффициент дисперсии  $D$  может быть рассчитан по формуле

$$D = c_0 / c_{\max}$$

где  $c_0$  и  $c_{\max}$  – концентрации, отвечающие начальной в пробе и максимальной реальной, зарегистрированной детектором. Типичное значение коэффициента дисперсии в реальных системах 3–10. Это отвечает средним значениям  $D$ . Как правило, системы с  $D > 10$  используются только тогда, если пробу необходимо разбавить, например в случае применения ионометрических детекторов. Установлено, что в математической форме контур выходной кривой лучше всего описывается уравнением гамма-функции.

Подчеркнем совместное воздействие на коэффициент дисперсии физического разбавления и скорости протекания химической реакции в системе, что приводит к уменьшению высоты пика (см. рис. 2).



**Рис. 2.** Явление дисперсии пробы в проточной системе (а) и факторы, влияющие на нее (б, в): а – дисперсия пробы и форма выходной кривой, б – влияние объема инжектируемой пробы (в мкл, цифры у кривых) на высоту пика, в – влияние длины смесительной спирали  $L$  (в см) на высоту пика (объем пробы 60 мкл).  $c_0$  – концентрация определяемого вещества в пробе,  $c_{\max}$  – наибольшая концентрация его в движущейся зоне,  $S$  и  $t_0$  – место и время инъекции пробы,  $D$  – коэффициент дисперсии,  $T$  – время достижения максимума высоты пика,  $A$  – светопоглощение (сигнал),  $L$  – длина смесительной спирали (см. цифры над кривыми), объемная скорость потока везде 1,5 мл/мин, внутренний диаметр всех трубопроводов 0,05 см

Поэтому важно отметить, что коэффициент дисперсии зависит от таких факторов, как объем вводимой пробы, геометрия и конфигурация проточной системы, длина и внутренний диаметр смесительной спирали, объемная скорость потока. Примеры их воздействия приведены на рис. 2, б, в. Исходя из подобных данных было установлено, что наилучшие результаты получаются, если объем пробы составляет 10–100 мкл, диаметр соединительных трубок проточной системы 0,05–0,1 см, объемная скорость потока 0,4–2 мл/мин. Производительность системы в зависимости от скорости аналитической реакции, наличия процедур экстракции, диффузии через мембраны и т.д. при этом будет в интервале 30–300 проб в 1 ч.

Перечисленные ниже ценные особенности ПИА отличают его от других аналитических методов:

1) быстрота выполнения, химики-аналитики говорят “экспрессность”, и, следовательно, экономия рабочего времени, так как отпадает необходимость в выполнении стандартных и длительных рутинных аналитических операций, связанных с разбавлени-

ем растворов, добавлением реагентов, работой на аналитических приборах;

2) высокая воспроизводимость измерений и, следовательно, надежность получаемых результатов анализа;

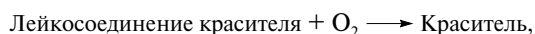
3) осуществление химико-аналитических реакций в закрытой в техническом смысле слова проточной системе при отсутствии контакта с токсичными веществами и атмосферой, возможность использования неустойчивых реагентов, генерирования их непосредственно в потоке;

4) экономия дорогостоящих аналитических реагентов, на анализ каждой пробы расходуется 100–300 мкл раствора реагента;

5) большая гибкость в создании новых схем автоматического анализа, то есть реализация модульного принципа при разработке их конфигурации, возможность использования различных параметров пика – высоты, площади, ширины – для определения концентрации.

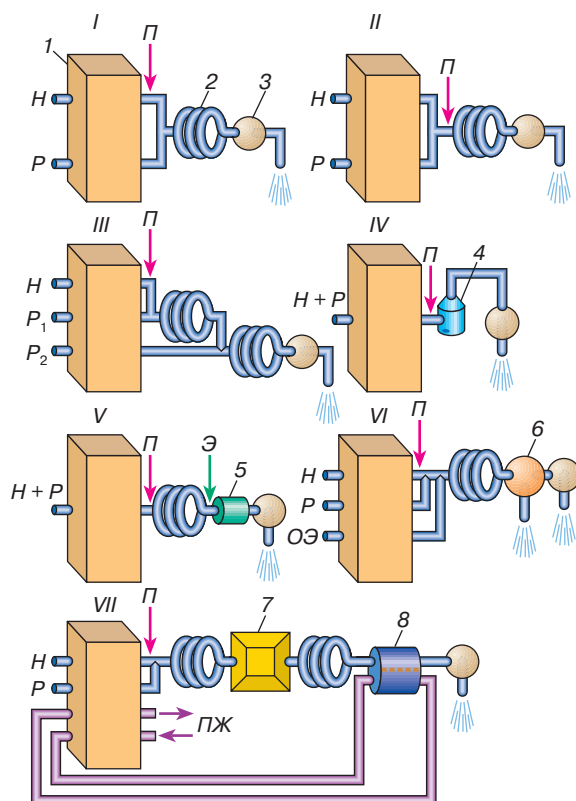
### КОНФИГУРАЦИЯ ПРОТОЧНЫХ СИСТЕМ И РЕЖИМЫ РАБОТЫ

Рассмотренный типичный пример определения Fe(III) в проточной системе – стандартный способ нормального ПИА. Очень просто превратить его в обращенный вариант. Для этого достаточно прокачивать через проточную систему саму пробу, а инжектировать в нее раствор реагента. Так целесообразно поступать, например, при мониторинге растворенного кислорода в природных водах [6]. Реагент – раствор бесцветного лейкосоединения тиазинового красителя метиленового синего. Под действием растворенного кислорода он моментально окисляется с образованием интенсивно окрашенного синего красителя:



что регистрируется спектрофотометром как сигнал в виде стандартного пика. Этот простой прием позволяет не только экономить реагент, но и устранить погрешности отбора пробы.

Конструктивно заложенные в блочную структуру ПИА возможности позволяют подбирать необходимую для решения конкретной аналитической задачи конфигурацию (рис. 3). Во-первых, можно приспособить проточную систему для наилучшего проведения аналитической реакции (рис. 3, I–III), сделать ее двухканальной, трехканальной и т.д. Добавив в конфигурацию системы механический смеситель, можно осуществлять титрование в потоке (рис. 3, IV). В проточную схему можно включить устройства, выполняющие различные аналитические процедуры: ионный обмен или сорбционное концентрирование (рис. 3, V), экстракцию (рис. 3, VI), диализ или диффузию растворенных газов через полупроницаемые мембраны, облучение проб вы-



**Рис. 3.** Примеры конфигурации проточно-инжекционных систем: 1 – перистальтический насос, 2 – смеситель, 3 – детектор, 4 – механический смеситель с вращающейся мешалкой, 5 – ионообменная колонка (также может быть подключен химический реактор), 6 – разделитель водной и органической фаз – сепаратор, 7 – микроволновый или ультрафиолетовый облучатель, 8 – камера с газовой мембраной или диализатор  
H – носитель, P – реагент, ОЭ – органический экстрагент, П – проба, Э – элюент, ПЖ – промывочная жидкость

сокоэнергетическим ультрафиолетовым и микроволновым излучением (рис. 3, VII), включение в проточную систему химических реакторов (рис. 3, V) и, возможно, другие элементы. Это существенно расширяет возможности этого метода анализа. И последний пример. Если аналитическая реакция протекает медленно, то ее тоже можно использовать в ПИА. Для этого достаточно остановить поток носителя в момент нахождения пробы в детекторе и дождаться, пока сигнал не достигнет постоянного значения. Конечно, это должен быть фирменный анализатор, работающий под контролем компьютера.

### АНАЛИТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ И РАЗВИТИЕ

В настоящее время приборы для ПИА выпускают многие фирмы. Представление о современном

приборе передает фотография анализатора фирмы "Tecator" класса FIStar – Flow Injection Analysis for Students, Teaching and Research (рис. 4). Автоматический пробоотборник инжектирует пробу в поток носителя и реагента, в аналитическом блоке происходит аналитическая реакция и регистрируется сигнал детектора. Он выписывается в виде пика, печатается его численное значение. Эти параметры выводятся на дисплей. Одновременно происходит запись сигнала в память компьютера. Нередко такие приборы комплектуются специальными модулями для определения конкретных веществ, например: аммиака, сернистого газа, кальция в воде, альбуминов в биологических жидкостях и т.д.

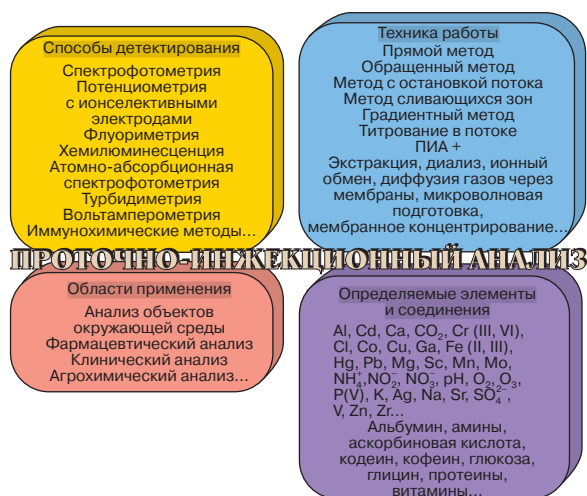


**Рис. 4.** Проточно-инжекционный анализатор фирмы "Tecator": 1 – самописец и цифropечатающее устройство, 2 – аналитический блок с двумя программируемыми перистальтическими насосами, 3 – автоматическое проботборное устройство, 4 – дисплей монитора

Подобные анализаторы, работающие под контролем компьютера, – высокопроизводительные автоматы. В современной практике аналитических лабораторий ПИА широко распространен. Его применяют для автоматизации различных химико-аналитических определений в разнообразных областях. Особенно обращает на себя внимание применение его в анализе объектов окружающей среды: различных природных и сточных вод, атмосферы, в экологическом мониторинге, в клиническом, иммуноферментном, агрохимическом анализе. Информацию о практических особенностях ПИА и его возможностях передает схема, приведенная на рис. 5.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ПИА представляет собой один из лучших способов химического анализа растворов. Благодаря ему в практической работе исчезают утомительные, обычно выполняющиеся вручную аналитические процедуры. Это сокращает время выполнения аналитических определений при улучшении качества получаемых результатов анализа. Благодаря своим имманентным особенностям, блочному принципу конфигурирования проточных систем, возможнос-



**Рис. 5.** Обобщенная важная информация о проточно-инжекционном анализе

ти измерения интенсивности различных свойств продуктов аналитических реакций ПИА предоставляет гибкие и широкие возможности для разработки новых аналитических реакций и способов анализа на их основе.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Шпигун Л.К. Проточно-инжекционный анализ // Журн. аналит. химии. 1990. Т. 45, № 6. С. 1045–1091.
2. Шпигун Л.К., Золотов Ю.А. Проточно-инжекционный анализ. М.: Знание, 1990. 42 с.
3. Gary D. Christian. Analytical Chemistry. N.Y. etc.: Wiley, 1994. 812 p.
4. Ruzicka J. The Second Coming of Flow-Injection Analysis // Anal. chim. acta. 1992. Vol. 261, № 1/2. P. 3–21.
5. Van der Linden. Classification and Definition of Analytical Methods Based on Flowing Media // Pure and Appl. Chem. 1994. Vol. 66, № 12. P. 2494–2500.
6. Основы аналитической химии. М.: Высш. шк., 1996. Кн. 2: Методы химического анализа / Под ред. Ю.А. Золотова. 462 с.

\* \* \*

Владимир Витальевич Кузнецов, доктор химических наук, профессор, руководитель отдела бакалавриата и магистратуры, действительный член Международной академии наук высшей школы. Область научных интересов – проточно-инжекционный анализ, мембранные оптические сенсоры, внешнесферные ассоциаты, хемометрика, химико-аналитическое образование. Автор свыше 200 научных публикаций, соавтор монографии и двух учебников по аналитической химии.