

Az áramló oldatos sorozatelemző készülékek fejlődésének főbb lépései

Nagy Géza*,** – Nagy Lívia*

Bevezetés

Az áramló oldatos mennyiségi elemző módszereket napjainkban, széles körben alkalmazzák a kémiai analízis különböző területein. Így például a nagy hatékonyságú folyadék kromatográfia az áramló eluens oldat segítségével éri el az egyes komponensek elválasztását, a detektálás is áramló oldatokban történik. Egyes ipari folyamatokat, folyamatos technológiákat gyakran az áramló oldatokban végzett műszeres mérésekkel ellenőrzik. A reakciókinetika eszköztárában is előkelő helyet foglalnak el a „flow” módszerek.

A sorozatelemzés céljára számos cég gyárt mechanizált, illetőleg automatizált analizátorokat. A laboratóriumi sorozatelemzők fejlődésének egy fontos lépését jelentette az áramló oldatos készülékek megszületése, elterjedése. Az áramló oldatos módszerek alkalmazásához új szemlélet szükséges. Nem véletlen tehát, hogy az analitikai kémiai kézikönyvek, tankönyvek, módszergyűjtemények külön fejezetet szentelnek az „automatikus” laboratóriumi sorozatelemző módszereknek és készülékeknek.

A kezdeti kromatográfias eredmények, a folyamatosan működő szelektív detektorok, regisztrálók, adatgyűjtők megjelenése és az ipari készülékekkel szerzett kedvező tapasztalatok járultak hozzá a mechanizált sorozatelemzők fejlődéséhez. A működési alapelvek kidolgozásában, számos jól működő módszer kifejlesztésében a Veszprémi Egyetemen, majd a Budapesti Műszaki Egyetemen dolgozó, Pungor Ernő professzor által vezetett kutatócsoport úttörő munkát végzett. A munka során elért eredmények jelentős nemzetközi elismerést vívtak ki. Ennek ellenére a hazai kutatók munkájának hozzájárulása a tématerület fejlődéséhez viszonylag kevésbé ismert. Jelen közleményben rövid áttekintést adunk az áramló oldatos sorozatelemző készülékek fajtáiról, fejlődéséről, alkalmazási területéről. Igyekszünk ennek során a megemlékezni, a fejlődés egyes fontos lépését jelentő olyan eredményekről is, amelyek hazai laboratóriumokban születtek.

A kémiai analízis céljára kifejlesztett korai mechanizált készülékek gyakran csak a teljes procedura egy-egy lépésének elvégzésében segítettek az analitikust. Megtírálták a bemért mintaoldatot, felvették a titrálási görbét, esetleg megállapították az egyenértékpontot, frakciókat gyűjtöttek stb. A teljes analitikai procedura elvégzéséhez több mechanikus egység összehangolt, időzített működésére van szükség.

Az analitikus munkáját elvégző, annak lépéseit utánzó mechanizált analizátorok első példányainak megalkotásakor megfelelő elektronikus szabályzó egységek nem álltak rendelkezésre, illetőleg alkalmazásuk túl költséges volt. Így az időzítést is gyakran elektromechanikai úton kellett megoldani. A mozgó alkatrészeket tartalmazó készülékek karbantartási igénye rendszerint nagy. Egy mozgó alkatrészeket, dugattyúkat, szelepeket, csapokat, programtárcsát stb. tartalmazó berendezés megfelelő karbantartás mellett is viszonylag gyakran meghibásodik. Különösen így van ez olyan készülékek esetén, amelyeknek kémiai reagensekkel, laboratóriumi atmoszférában kell működni. Az analízist diszkrét, elkülönített edényzetben végző mechanizált analizátorok (batch típusú készülékek) korai példányai nem kielégítő üzembiztonságuk miatt csak korlátozottan terjedtek el a gyakorlatban.

Az áramló oldatos készülékek teljesen más működési sémát követnek. A mérést átfolyó analízis csatornában végzik. Ezzel a megoldással a készülék meghibásodásra hajlamos, gondos karbantartást igénylő

mozgó alkatrészeinek száma jelentősen csökkenthető volt. Az áramló oldatos sorozatelemzők első sikeres példányait az 1950-es években dolgozták ki. Ezek működése perisztaltikus pumpán, folyamatosan működő kolorimetriás detektáláson, a detektor jelének folyamatos regisztrálásán és egyszerű mintaváltó alkalmazásán alapult.

A készülékek kedvező működési biztonsága, az analízis viszonylag nagy sebessége, kedvező reprodukálhatóságot biztosító sajátos haramosan széles körű elterjedést eredményezett. Hamarosan létrejöttek az áramló mintaoldatok előkészítését végző átfolyó egységek, amelyeket az analízis csatornába iktatva a mind bonyolultabb analitikai eljárások is adaptálhatókká váltak az áramló oldatos készülékre.

Az áramló oldatos analizátorokat az általuk alkalmazott működési alapelv szerint szokásos csoportosítani. Beszélhetünk *buborékszegmentálást alkalmazó, injektálós elemzést (flow injection analysis-t) végző készülékekről és áramló oldatos titrátorokról (flow titrators)*. Az áramló oldatos készülékekhez hasonlóan működnek az ún. *batch injection analyser*-ek.

Buborékszegmentálást alkalmazó analizátorok

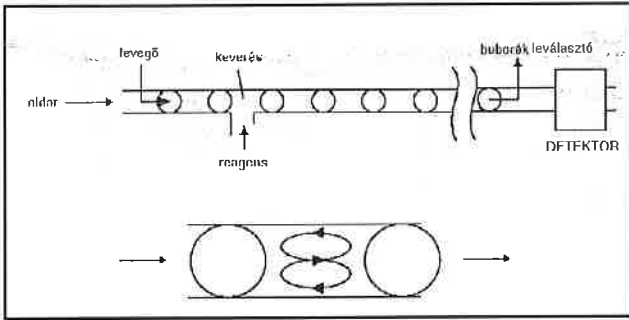
Az első népszerűvé vált áramló oldatos mintaelemző készüléktípus kidolgozása L. T. Skeggs [1] amerikai kutató nevéhez fűződik. Az általa, az 1950-es évek végén, eredetileg a klinikai analízis számára kidolgozott készülék viszonylag nagy belső átmérőjű (2–3 mm) üvegcsővekből, üveg csőhálókból összeállított, többcsatornás perisztaltikus szivattyúval működtetett analízis csatornát alkalmaz. A szivattyú egyrészt reagens oldatot, másrészt felváltva mintaoldatot illetőleg mosófolyadék dózist juttat az analízis csatornába. A mintaoldatok helyén adott gyakorisággal kalibráló standard oldatok bejuttatására kerül sor. Az analízis csatornában áramló minta- illetőleg standard oldat a reagenssel elegyedik és megindul a kémiai reakció. Az áramló reakció elegy a detektorcellába jut, ahol a kémiai átalakulásnak megfelelő analitikai jel keletkezik. Skeggs kezdeti megoldásaiban rendszerint a látható hullámhosszok tartományában működő fotometriás átfolyó detektorcellát alkalmazott. Az ő munkáján egy nagy sikerű analizátor-család alapul, a Technikon cég AutoAnalyzer készülékei.

A készülékek sikeréhez nagyban hozzájárult Skeggs nagyszerű ötlete: a buborékszegmentálás. Amint az ismeretes, a perisztaltikus szivattyú pulzáló folyadékáramlást hoz létre a nyomócsőben. Ahogy a gőg lelép a nyomócsőről, hirtelen megváltozik a nyomás a kilépő oldalon, és ez az áramlás stagnálását, esetleg rövid idejű megfordulását eredményezheti. A stagnálás pillanatában rövid ideig megnyitott szelepen keresztül bevezetett levegő vagy inert gáz buborékai jelentősen csökkenthetik, már az analízis csatorna kezdeti szakaszában, az áramló oldat pulzálását. Az oldatot szegmentáló rugalmas buborékok tovább növelik az áramlás stabilitását. A buborékszegmentálás további fontos előnye a buborékok között áramló oldatszegmentekben kialakuló örvénylő mozgásnak köszönhető keveredés. A folyadékok összefolyási helye után rövid távolságra a szegmentekben már homogén elegy áramlik a detektor felé. Az analízis csatorna működését mutatja az 1. ábra.

Az áramlási sebesség, az analízis csatorna térfogata adott, azonos hosszúságú reakció időt biztosít az oldatszegmentek számára. Az egyes oldatszegmentek az áramlás során különböző reagensekkel találkozhatnak, különböző kezeléseken eshetnek át. Így gyakori a pH beállítása, a termosztálás, a dialízissel vagy a gázdialízissel történő elválasztás és az UV besugárzás alkalmazása.

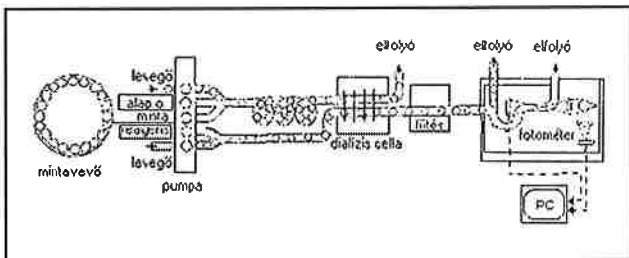
* MTA-PTE Kémiai Szenzorika Kutatócsoport, Pécs, Ifjúság u. 6. H-7601

** Pécsi Tudományegyetem, TTK, Általános és Fizikai Kémia Tanszék, Pécs, Ifjúság u. 6. H-7601



1. ábra. Az oldat áramlásának vázlatos képe a buborékszegmentált elemzőkben

A buborékszegmentált rendszerű sorozatelemzők alkalmazásához nagyszámú módszert dolgoztak ki. Az egyes mérőeljárások céljaira speciális átfolyó egységek születtek, ezekből lehet a szükséges sajátosságú analízis csatornát összeállítani (2. ábra). Az analízis csatorna bemutatásához speciális jelrendszer születtek, amely mutatja a szükséges áramlási sebességeket biztosító nyomócsövek méretét, a reagensek becsalozási helyeit, a reakció lejátszódásához szükséges csőkígyó méretét, az elválasztó, a termosztáló, a buborékleválasztó egységeket valamint a detektorcellát és a detektáláshoz szükséges mérési paramétereket.



2. ábra A méréshez alkalmas analízis csatorna vázlatos összeállítási rajza

A buborékszegmentált rendszerek nagyszámú, közel azonos koncentráció-tartományba eső mintaoldat sorozatelemzésére jól alkalmazhatók. A mérési sorozat megindítása rendszerint gondos odafigyelést igényel. Hátrányos tulajdonságok között a viszonylag nagy reagensfogyasztást és mintatérfogást szokás említeni.

A Technikon AutoAnalyzer® készüléksaládhöz hasonlókat éveken át gyártott a hazai Labor MIM cég Contiflo néven. A készülékek fejlesztéséhez, a készülékek használatával végezhető módszerek kidolgozásához jelentős segítséget adott Pungor Ernő professzor kutató csoportja [2]. Hazánkban számos regionális mezőgazdasági laboratóriumban, környezetanalitikai, gyógyszergyári, klinikai laboratóriumban működtek, illetőleg működnek ma is buborékszegmentációt alkalmazó áramló oldatos sorozatelemzők.

Szegmentálás nélküli, folyamatos áramlást alkalmazó analízátorok

Pungor Ernő 1968-ban az áramló oldatos analízátorok új típusával kezdett foglalkozni. Feltételezhető volt ugyanis, hogy buborékszegmentálás nélküli, áramló oldatos készülékek kifejlesztésével kisebb mintatérfogatok sorozatelemzésére illetőleg áramló oldatos titrimetriás analízisére nyílik lehetőség. A munka nyomán létrejöttek az első *injektálásos elemzőkészülékek*, valamint az *áramló oldatos titrátorok egy új válfaja*. A tématerületen folyó fejlesztő munka eredményeiről szóló közlemények [3–5] igen kedvező fogadtatásra találtak. A hazai műszeripar azonban nem tudta a lehetőségeket új készülékek piacra vitelével kihasználni.

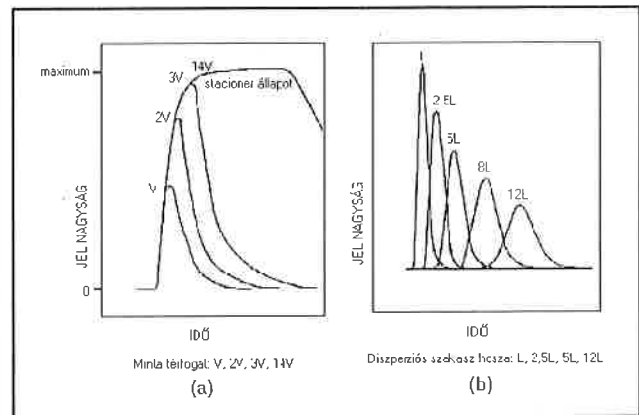
Az injektálásos elemző módszerek napjainkra főleg J. Ruzicka és E. Hanzen 1975-ben indult munkája és professzionális marketing tevé-

kenysége nyomán [6,7], flow injection analysis (FIA) néven óriási népszerűsége tettek szert. A módszerről szóló közlemények száma meghaladja a 13 000-et, róla tizenöt monográfia és több mint százötven disszertáció szól. Több cég gyárt FIA módszert alkalmazó készüléket.

A továbbiakban az említett két fajta elemzőtípust mutatjuk be.

Injektálásos rendszerek, flow injection analysis

Az egyszerű felépítésű injektálásos elemzőkbe a mintaoldatok kis térfogatú dózist állandó térfogatsebességgel, folyamatosan áramló vivő oldat áramába juttatjuk. A dózis diszperziót szenvedve az áramlás során végigjárja az analízis csatorna különböző szakaszait, azaz az esetleges minta-előkészítési lépéseken, a kémiai reakció zónán túljutva az átfolyó detektor cellába jut, majd a lefolyóba távozik. Ennek során a diszperzió mértékének, jellegének megfelelő szélességű csúcs alakú detektorjel-idő görbe keletkezik a detektorcellában. A különböző diszperziós viszonyok mellett kialakuló tranziensek jellegét mutatja be a 3. ábra.



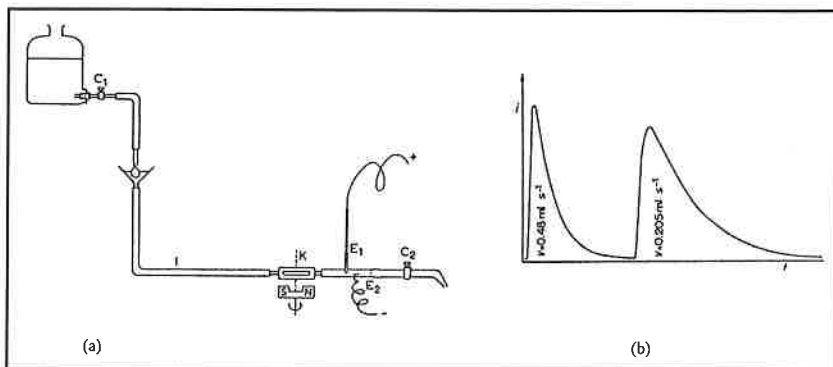
3. ábra. A minta V térfogatának (a) és a diszperziós csőszakasz L hosszának (b) hatása a jel nagyságára

Látható, hogy nagy mintatérfogattal (3. a. ábra) a jel stacionárius állapotot ér el, nem történik hígulás, míg kisebb mintatérfogatok esetében, a hígulásnak megfelelően kisebb csúcsokat kapunk. A minta áthaladása után a jel az eredeti értékére csökken. Két minta között nincs szükség az analízis csatorna kimosására. Megfelelően kis átmérőjű, különböző hosszúságú diszperziós csőszakaszokon átáramló mintaoldat-dugó esetében kapható jeleket mutat be a 3. b. ábra. Látható, hogy nagyobb diszperzió esetén a jel közel szimmetrikussá válik. A mai korszerű FIA készülékek analízis csatornája 0,5 – 1 mm belső átmérőjű. Ilyen feltételek mellett az áramlásra merőleges irányban az oldat homogénnek tekinthető. Más a helyzet nagyobb csőátmérő esetében. A Pungor és munkatársai első injektálásos kísérleti berendezésükben [3] átfolyó amperometriás detektorcellát alkalmaztak. Ez az elektrodfelülettel közvetlenül érintkező oldatban levő elektroaktív anyag koncentrációjával lineáris függvénykapcsolatban lévő jelet (áramot) produkál. Az alkalmazott nagy csőátmérő miatt csak úgy sikerült reprodukálható, zajmentes jelet kapni, ha a diszperziót jelentősen növelő, mechanikusan meghajtott, kis térfogatú keverő cellát iktattak a detektor és az injektáció helye közé.

Az 1970-ben leírt [3] készülék vázlatos rajza és a készülékkel kapott amperometriás áram-idő regisztrátumok láthatók a 4. ábrán.

Látható, hogy a folyadék áramoltatását úszós szintszabályozóval stabilizált hidrosztatikai nyomás biztosította. Az elektroaktív mintaoldat dózisokat az elasztikus csőfalat átszűrő fecskendővel lehetett beadni. A detektor csőszakaszba nyúló 0,25 – 2 mm átmérőjű, impregnált grafitkorong munkaelektrodát szolgáltatja a jeleket. A csúcsok alatti terület és a beinjektált anyagmennyiség közötti függvénykapcsolatot sikerült a Levics-egyenlettel és a kevert tankmodell segítségével leírni, és igazolni az egyenlet érvényességét.

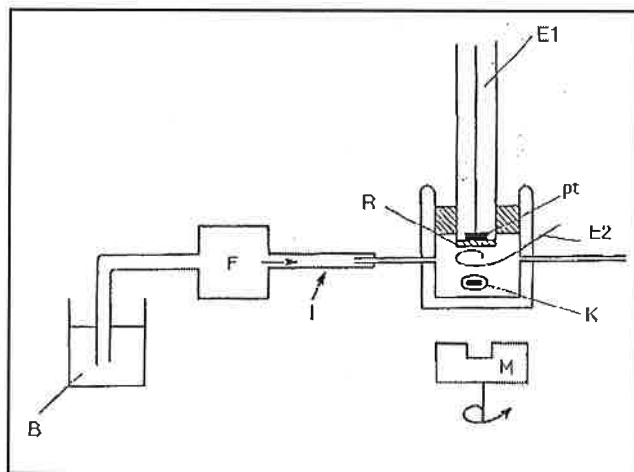
Az injektálásos elemzők nagy átalakuláson mentek át azóta. Többcsatornás perisztaltikus szivattyú szállítja az oldatokat, a mintaoldat be-



4. ábra. Pungor és munkatársai első injektálásos kísérleti berendezése (a) [jelölések: C1, C – nyit-zár csapok, K – keverő, E1 – munka elektród, E2 – referencia elektród] és amperometriás detektálási jelek: 0,1 ml 10⁻² M propilén minta injektálásával és két különböző áramlási sebesség alkalmazásával nyert csúcsok (b)

juttatására megfelelő hurok injektor szolgál. Különböző minta-előkezelő, elválasztó, reakció időt biztosító egységek, csőigények kerülnek alkalmazásra. A detektálás céljára leggyakrabban kolorimetriás egység szolgál. Természetesen elektrokémiai detektorok, UV-, fluoreszcenciás cellák, atomabszorpciós készülékek alkalmazása sem ritka. A spektrofotometriás detektáláshoz gyakran alkalmaznak optikai szálcsővezetést. Az analízis csatorna átmérője és szerkezete kisméretű diszperziót okoz, így lehetőség van igen kis mintatérfogat igen nagy sebességű analízisére igen kis fajlagos reagensfelhasználás mellett.

A mechanikusan meghajtott keverő cella nagyméretű diszperziót okozván csak olyan esetekben jelenik meg az analízis csatornában, amikor a reagens és a mintaoldat közötti reakció lejátszódása viszonylag lassú, vagy a detektor válaszideje hosszú. Ilyen esetre készült készülék vázlatos rajzát mutatja az 5. ábra.



5. ábra. Mechanikusan meghajtott keverő cellás készülék
Jelölések: B – alapoldat, F – perisztaltikus pumpa, I – injektor,
R – reakció réteg, E1 – L-aminosav enzimelektrod,
E2 – referencia elektród, K – keverő, M – mágneseskeverő-motor

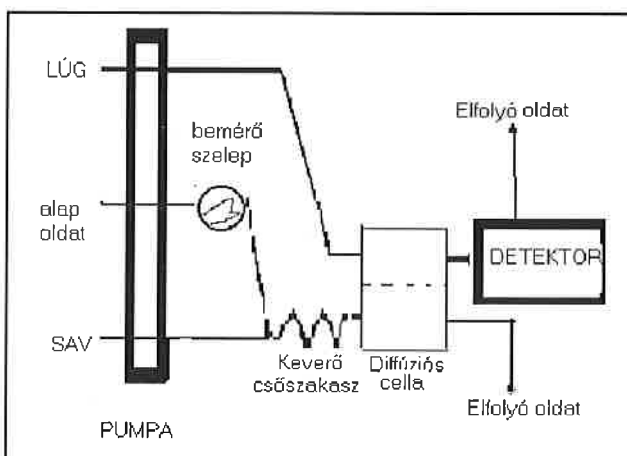
Az 1975-ben leírt készülék [5] lassú válaszü enzimelektrodát alkalmazott detektorként. Látható, hogy a készülék esetében a viszonylag nagy felületű enzimelektrod a keverő cellában foglal helyet.

A keverő cella előnyei, hátrányai éveken át vitákat váltott ki a FIA módszert fejlesztő iskolák között. Beigazolódott [8], hogy a csőben áramló, különböző viszkozitású minták diszperziójának mértéke eltérő. Ez jelentős mérési hibát okozhat, amit a mechanikus keverő kamra alkalmazásával elkerülhetünk. A sokat vitatott keverő kamra ma már a viszonylag ritkán alkalmazott FIA titrátorok fontos szerkezeti eleme.

A 6. ábra egy korszerű FIA készülék vázlatos rajzát mutatja. A kor-

szerű készülékek megfelelő számítógépes szabályozó, adatgyűjtő, értékelő egységekkel vannak ellátva.

A FIA módszer fejlődésének egy újabb irányát jelenti a **szekvenciális injektálás (sequential injection, SI)** technika alkalmazása [9]. Ebben az esetben a készülék felépítése és működési programja lehetőséget biztosít az áramlás irányának megfordítására. A kis térfogatú mintaoldatot és a reagens kis térfogatú dózist egy megfelelően kialakított injektorral közvetlenül egymás után injektálják az inert vivő oldatba. Az áramlás ekkor a detektortól távolodó irányú. Áramlás közben a reagens és a minta a diszperzió következtében keveredik, a reakció megindul. Adott idejű áramlás vagy beiktatott várakozás után a készülék az áramlás irányát



6. ábra. Korszerű FIA készülék

megfordítva a reakcióelegyet átvizsi a detektoron. A minta detektorjelét a standardokéval összevetve kapjuk az analízis eredményét. A megoldás komplikáltabb készüléket igényel, de nagy előnye a kis reagens-felhasználás, továbbá az, hogy az analitikai reakció ideje széles tartományban megválasztható. A hagyományos FIA mérésnél a reakció időt az analízis csatorna térfogat és az áramlási sebesség megválasztásával csak szűk tartományban változtathatjuk. A módszer kétségtelen előnyei mellett bonyolultabb volta hátrányként jelentkezhethet. Bár egy 2002-ben megjelent összefoglaló tanulmány [10] háromszáznál több SI közleményt tart számon, a módszer széles körű alkalmazása még várat magára.

A fejlődés egy újabb irányát jelenti a **mikrogyöngy injektálásos technika (bead injection, BI)** [11]. Az analízis alapjául szolgáló, detektálható változást előidéző reakció ebben az esetben a miniatűr méretű, reagenst tartalmazó gyöngyök hatására jön létre. A még meglehetősen új technika igen sok lehetőséget rejt magában lévén, hogy a gyöngyökben vagy a gyöngyök felületén számos, különböző típusú reagens alkalmazható. A BI analízis során első lépésben a reagens gyöngyöket – legtöbbször vizes szuszpenzió formájában – az analízis csatornába injektálják. A gyöngyök az áramlási csőszakasz egy bizonyos helyén megállnak, kis gyöngy reaktort képeznek. Az ez után injektált minta a reaktorba jutva a gyöngyökkel kölcsönhatásba kerül. Egyes esetekben kémiai reakció játszódik le, máskor a gyöngyök első lépésben megkötik a mérendő komponenszt. A mátrix anyagok eltávoznak és a kémiai reakció a megkötött, a zavaró mátrix részektől megtisztított mérendő komponens és az utólag injektált reagens között játszódik le. A kémiai átalakulás termékének detektálása után a gyöngyök eltávolíthatók az áramlás irányának megfordításával.

Nyilvánvaló, hogy az ilyen típusú analízis séma segítségével akár

nagy érzékenységű immunanalitikai (ELISA –BI) mérések is elvégezhetők. Előnyös az is, hogy nagy térfogatú, igen híg mintaoldatból a gyöngyök felületén az analízishez elégséges mennyiségű mérendő komponens gyűjthető össze, tehát lehetőség van kellő mértékű dúsításra. A mérésekhez rendszerint 2000 – 10 000 darab, egyenként 30 – 150 µm átmérőjű Sephadex, grafit esetleg más anyagból készült mikrogömböcskéket használnak, amelyek felületét a megfelelő reagenssel, ioncserélő anyaggal, avidinnal, kelátképző ágenssel, immunreagenssel vonják be. A kétségtelen előnyök mellett a mind bonyolultabb analízis séma, annak alkalmazását lehetővé tevő komplikáltabb készülék hátrányként jelentkezhet. A mintákat hagyományosan, elkülönítve kezelő analízátor készülékek és az automatizált HPLC elemzők komoly vetélytársai lehetnek a mind bonyolultabbá váló injektációs készülékeknek. Különösen, hogy az elemző robotok fejlődése, elterjedése meglehetősen intenzív folyamat napjainkban.

Áramló oldatos titrátorok

A direkt analitikai módszerek és a titrálások mennyiségi elemzési eljárások összehasonlítása során a titrimetriás módszerek több, nem elhanyagolható előnnyel rendelkeznek. A direkt analitikai módszerek a megfelelően előkészített mintát valamilyen detektorral kapcsolatba hozva a detektor által szolgáltatott jelet rögzítik. Majd azt kalibrációs adatokkal összehasonlítva adják meg a mérési eredményt. A kalibrációs adatok gyűjtéséhez rendelkezniünk kell a mérendő anyag kellő tisztaságú, adott mennyiségével. Ha a kalibráló standard nem kellő tisztaságú, akkor az eredményt szisztematikus hiba terheli. A másik hibaforrás lehet a detektor érzékenységének a kalibráció utáni megváltozása, vagy egyes zavaró mátrix-komponenseknek a detektor jelre gyakorolt hatása.

A titrálások esetében a reagens titerét lehetőségünk van jól bevált, pontosan bemérhető, nagy tisztaságban beszerezhető ágenssel megmérni. Nincs tehát szükség kalibrációra, kalibráló standardokra. A mérési eredményt a reagens és a minta stöchiometriai egyenértékűsége alapján nyerjük. Az egyenértékű pont helye a titrálási görbén kitüntetett pont. A detektor érzékenységének változása ennek helyét csak kevésbé befolyásolhatja. Még azt is mondhatjuk, hogy a titrálás egy folyamat, ami megfigyelhető, nyomonkövethető. A hiba a titrálási görbe vizsgálatával detektálható. Diszkrét oldatminták titrimetriás elemzésére számos cég gyárt mechanizált elemzőkészüléket.

Az áramló oldatos sorozatelemzők fejlődése során kézenfekvő volt kísérletet tenni áramló oldatos titrimetriás sorozatelemzők kifejlesztésére. Feltételezhető volt ugyanis, hogy az áramló oldatos módszerek előnyeinek ötvözése a titrimetriás analízis megbízhatóságával több területen kihasználható.

Az iparban folyamatos ellenőrzésre használatos ún. folyamatos titrátorok közül több működik áramló oldatokban. Ezek a berendezések az egyszerű szabályozó körök elvén működve előre megállapított végpontérték elérésig adagolják a reagenst. Így a detektor érzékenységének változása hibát okozhat. A készülékek felépítésüknél fogva nem alkalmasak kis térfogatú minták sorozatelemzésére.

Áramló oldatminták teljes titrimetriás analízisére Eichler [12], majd később Fleet és Ho [13] készítettek készüléket a Technikon cég áramló oldatos elemzőinek használatával. A titrálendő oldat áramához gradiensképző edényzetből származó, az időben lineárisan növekvő koncentrációjú reagensoldattal végezik a titrálást. Megoldásuk szerint a reagens és a mintaoldat elegyedési pontja utáni reakció zónát elhagyó oldat a detektorcellába jutott. A detektorjel jelezte az egyenértékű pontot. Azonban az áramlásból adódó időkéés és diszperzió miatt nehéz volt megállapítani az egyenértékűponthoz tartozó pillanatnyi reagens-koncentrációt. A készülék alkalmazását a gradiensképző rendszer működtetésének körülményes volta is nehezítette.

A Pungor professzor csoportja által kidolgozott titrimetriás technika [14-18] jól alkalmazhatónak bizonyult áramló oldatminták elemzésére.

A készülék működési alapelve könnyen megérthető a következők alapján. Tegyük fel, hogy az analízis csatorna egy pontján állandó térfogatsebességgel áramló mintaoldat és reagensoldat találkozik. Az össze-

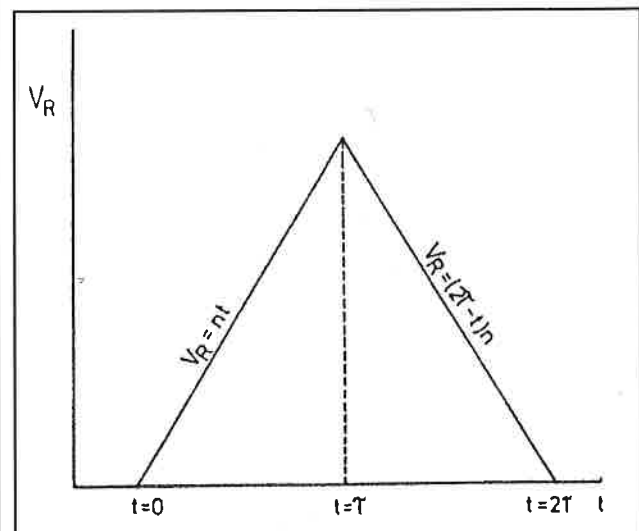
folyási pont után a keveredés teljes, az áramlásra merőleges irányban homogén oldatszegmensek követik egymást. A titrálási reakció gyors. A keveredési pont után adott távolságra elhelyezett detektorhoz érkező oldatban a titrálás alapját képező kémiai folyamat már lejátszódott. A detektorral a titráltsági fok nyomonkövethető. Más-más koncentrációjú reagensoldatot áramoltatva, a stacionárius detektorjelet megvárva felvehetnénk a titrálási görbét. Ekkor azonban igen nagy oldattérfogatokra és hosszú időre volna szükségünk egy analízis elvégzéséhez.

Más a helyzet, ha a C_s koncentrációjú mintaoldatot állandó v_s térfogatsebességgel áramoltatunk, de a $V_R = C_R V_R$ reagensanyagáramot időben lineárisan növeljük nulláról indulva a $V_R = nt$ függvény szerint, ahol t az idő, n pedig konstans.

Ekkor a t időpillanat és a titráltsági fok között jól definiált összefüggés áll fenn. Ez a csőszaknak arra a pontjára vonatkozik, amelyben a minta és a reagens keveredése pillanatszerűen létrejön. Az összekeveredés után a reakcióelegy folyamatosan továbbáramlik a csőben, így egy bizonyos késleltetési idő után a t időpillanatnak megfelelő reagens anyagáramhoz tartozó titráltsági fokú oldatrész az átfolyó analíziscsatorna minden további részébe eljut. A detektor így némi késéssel követi a titrálási folyamatot. Kellő túltritráltsági fok elérése után a detektorjelből az egyenértékű pont megállapítható. Ha ismert a reagensadagolási program n konstansa, valamint az áramlási sebesség és a csőszakasz térfogata által meghatározott t késleltetési idő, továbbá eltekintünk az áramlás során bekövetkező diszperziótól, akkor a regisztrált detektorjel-idő függvényen jelentkező egyenértékűponthoz tartozó időből kiszámítható a mintaoldat anyagárama, azaz koncentrációja.

A lehetőség vizsgálatával kapcsolatos kezdeti kutatások azonban rámutattak arra, hogy a diszperzió fellépte és más okok miatt az aktuális Δt késleltetési idő meghatározása bizonytalan. Ez megengedhetetlen mértékű mérési hibát okozhat. A hiba kiküszöbölésére célszerűnek látszott a Δt késleltetési idő becslést értékeknek használata helyett más módon kiszámítani az egyenértékűponthoz tartozó reagens anyagáramot (V_{RE}), [10].

Jó megoldást jelentett, olyan egyenlőszárú háromszög alakú reagens anyagáram-idő mérési program alkalmazása, amely esetben két egyenértékű pont jelentkezik a detektorjel-idő tranziensen. A módszert a mérési program alakja alapján **háromszögtitrálásnak** nevezzük. Az alkalmazott reagensadagolási program alakját a 7. ábra mutatja.



7.ábra. A reagensadagolási program

Amint az látható $t = \tau$ ideig $V_R = nt$. Ez a felszálló ág. A leszálló ágban, $t > \tau$ esetén, $V_R = (2\tau - t)n$. Az egyenértékű pontok megjelenése közötti idő (Q) azonos mérési program esetén nyilvánvalóan a minta anyagáramától függ. Nagyobb mintaanyagáram esetén a két egyenértékű pont közötti idő rövidebb. A $Q = t_{E2} - t_{E1}$ idő könnyen megadható, ha feltételezzük, hogy a titrálási reakció pillanatszerű, a reagens és a

MŰSZERES ANALITIKA

minta összekeveredése egy infinitézimalis oldatszegmensben történik és teljes, továbbá eltekintünk az áramlással párhuzamos irányú diszperziótól. A képletben v az analízis csatornában áramló folyadék térfogatsebessége, a és b az

$$aS + bR = gP_1 + hP_2$$

titrálási reakció stöchiometriai állandóit jelenti.

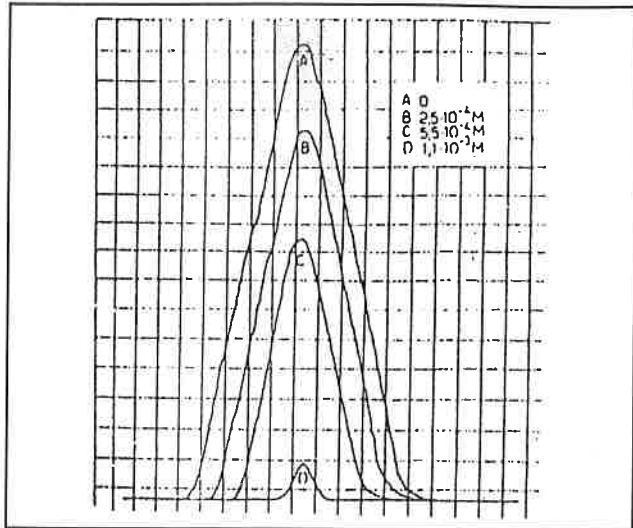
Látható, hogy a mintaoldat koncentrációja a reagensadagolási program sajátosságainak ismeretében kiszámítható, azaz a háromszög-programozott titrálási módszer alkalmas áramló mintaoldatok elemzésére.

Potenciometriás illetve amperometriás detektálás mellett, különböző koncentrációjú oldatok esetében nyerhető elméleti titrálási görbék mutat be a 8.a és 8.b ábra.

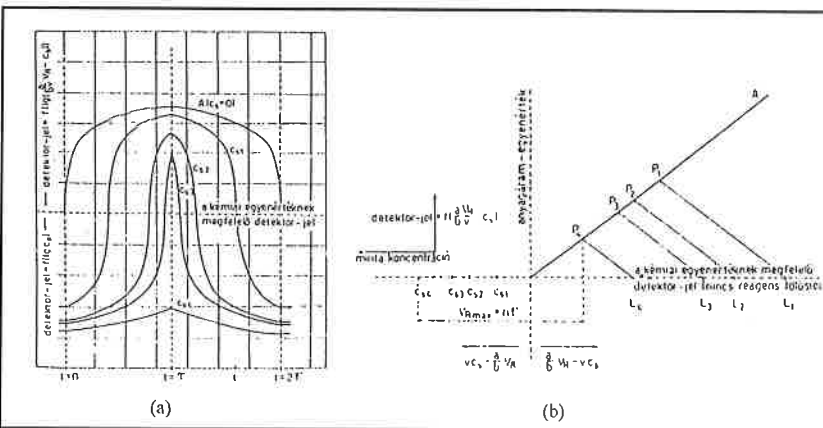
$$Q = t_{E2} - t_{E1} = 2\tau - \frac{2a}{bn} C_s v$$

A háromszög-programozott titrálásokhoz szükséges reagensadagolási program megvalósításának egyik legkézenfekvőbb módja az áramerősség-kontrollált elektrolízis.

A 9. ábra a coulometriás háromszögtitrálásos készülék vázlatos



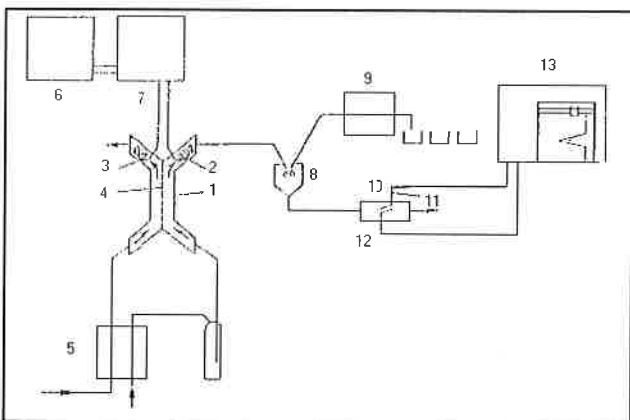
10. ábra. Amperometriás titrálási görbe



8. ábra. Az amperometriás és a potenciometriás titrálás elméleti görbéi

rajzát mutatja. A készülékkel készített amperometriás titrálási görbék mutat be a 10. ábra.

A Pungor-csoport a coulometriás áramló oldatos titrator számos változatát építette meg és ezeket sikerrel alkalmazta különböző analitikai feladatok megoldására. Német kutatók [19] készítették el a programozható dugattyús folyadékadagolóval megvalósított volumetriás háromszögtitrator készülékek több változatát.



9. ábra. A coulometriás háromszögtitrálásos berendezés vázlatos rajza (1 - elektrolizáló cella, 2 - munkaelektrod, 3 - segédelektrod, 4 - dialízis membrán, 5 - perisztaltikus pumpa, 6 - generátor, 7 - áram generátor, 8 - cseppedény, 9 - perisztaltikus pumpa, 10 - voltametriás detektorcella, 11 - anód, 12 - katód, 13 - polarográf)

Összefoglalás

A mennyiségi kémiai analízis területén gyakran szükséges közel azonos koncentrációjú, kis térfogatú oldatminta egyes komponenseinek a meghatározása. A minták egyre növekvő száma mechanizált, automatizált analízatorok kifejlesztését és alkalmazását helyezte előtérbe. Az áramló oldatos elemzők a feladat megoldására alkalmas készülékeknek bizonyultak. Több változatukat fejlesztették ki. Széles körű elterjedésük még a számítógépesített analízatorok megjelenése előtti időben megindult, és az analitikai eszközök fejlődésének fontos lépését jelentik. Jelentőségüket csak kismértékben csökkentik a mikrochip analízatorok, az analitikai robotok elterjedése és az elválasztástechnikát alkalmazó sorozatelemző készülékek térhódítása.

Pungor Ernő professzor csoportja a szelektív kémiai érzékelők fejlesztésének eredményeit, valamint a hidrodinamikai kutatások során szerzett tapasztalatait felhasználva jelentősen hozzájárult az áramló oldatos sorozatelemzők fejlődéséhez.

Irodalom

1. L. T., Skeggs: *Am. J. Clin Pathol.* 28 (1957) 311
2. M. Hango-Mahr, E. Pungor, V. Kuznecov: Separation and automatic spectrophotometric determination of low concentrations of cyanide in water, *Anal. Chim. Acta*, 178 (1985) 289-298
3. G. Nagy, Zs. Fehér, E. Pungor: Application of silicone rubber-based graphite electrodes for continuous flow measurements II. Voltammetric study of active substances injected into electrolyte streams, *Anal. Chim. Acta* 52 (1970) 47
4. Zs. Fehér, G. Nagy, K. Tóth, E. Pungor: The use of precipitate based silicone rubber ion selective electrodes and silicone rubber-based graphite voltammetric electrodes in continuous analysis, *Analyst* 99 (1974) 699
5. G. Nagy, E. Pungor: Enzyme Electrodes, Application of a Voltammetric L-amino Acid Enzyme Electrode to Analysis in Flowing Solutions, *Hung. Sci. Instr.* 32 (1975) 1
6. J. Ruzicka, E. H. Hansen: Flow Injection Analysis, *Anal. Chim. Acta*, 78, (1975) 145
7. J. Ruzicka, E. H. Hansen: Flow Injection Analysis, John Wiley and Sons Inc. New York, USA (1981), ISBN 0 47108192-2 (Könyv)
8. Zs. Fehér, G. Nagy, K. Tóth, E. Pungor: A detailed study of sample injection into flowing streams with potentiometric detection, *Anal. Chim. Acta* 98 (1978) 193
9. J. Ruzicka, G.D. Marshall: *Anal Chim Acta*, 237 (1990) 329 (sequential IA)

10. C. E. Lenehan, N. W. Barnett, S. W. Lewis: *Analyst*, 127, (2002) 997 (330 cikk)
11. J. Ruzicka: "Lab on-valve: Microflow Analyzer Based on Sequential and Bead Injection. *Analyst*, 125, (2000) 1053
12. D.L. Eichler: *Technicon Symposium, 1969* Vol.1, Mediad, White Plains New York 1970, 51.
13. B.Fleet, A.Y.W. Ho: *Anal. Chem* 46 (1974) 9
14. G. Nagy, K. Tóth, E. Pungor: Novel Programmed Coulometric Titration Technique; Chloride Determination in Streaming Solutions, *Anal. Chem.* 47 (1975) 1460
15. G. Nagy, Zs. Fehér, K. Tóth, E. Pungor: A novel titration technique for the analysis of streamed, samples - The triangle programmed titration technique Part I. General considerations, *Anal. Chim. Acta* 91 (1977) 87
16. G. Nagy, Zs. Fehér, K. Tóth, E. Pungor: A novel titration technique for the

analysis of streamed samples - The triangle programmed titration technique Part II Argentimetric titrations, *Anal. Chim. Acta* 91 (1977) 97

17. G. Nagy, Zs. Fehér, K. Tóth, E. Pungor: A novel titration technique for the analysis of streamed samples - The triangle programmed titration technique Part III. Titrations with electrically generated bromine *Anal. Chim. Acta* 100 (1978) 181
18. G. Nagy, Z. Lengyel, Zs. Fehér, K. Tóth, E. Pungor: A novel titration technique for the analysis of streamed samples - The triangle programmed titration technique Part IV. Automatic evaluation of the titration curves obtained with linear signal detectors, *Anal. Chim. Acta* 101 (1978) 261
19. M.Becker, B.Fuhrmann, U.Spohn: Selective determination of gas dialysable components in complex sample solutions using triangle programmed coulometric titration in continuous flow systems. *Anal.Chim.Acta*, 324, (1996). 115-123.

A kapilláris elektroforézis alkalmazása szervesetlen vegyületek meghatározására

Gáspár Attila*

A kapilláris elektroforézis rövid áttekintése

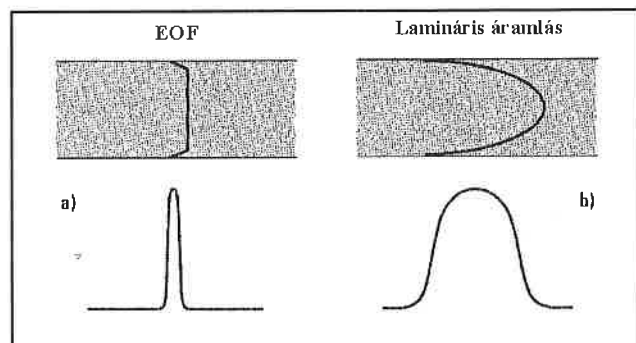
A jelenleg leghatékonyabb elválasztási technikák az elektroforézis elvén alapulnak, melynek lényege, hogy elektromos térben az oldott anyagok különböző sebességgel vándorolnak. A kapilláris elektroforézisnél (CE) az elektroforézis egy vékony, általában 25-75 μm belső átmérőjű, puffer oldattal töltött kapillárisban történik. A kapilláris alkalmazásának számos előnye van, így például az, hogy a kapilláris nagy elektromos ellenállásánál fogva a rendkívül nagy térerő (100-500 V/cm) alkalmazását csekély hőfejlődés mellett teszi lehetővé, ráadásul a fejlődött hő (Joule-hő) a kapilláris nagy felület/térfogat aránya miatt jól eloszlik. A nagy elektromos térerő használata rövid mérési időt, valamint nagy elválasztási hatékonyságot és felbontást biztosít. Az elméleti tányérszám, a kapillárison belüli elektroosmotikus áramlás dugószerű profiljának köszönhetően, sok esetben meghaladja a 10^6 értéket. Az elektroosmotikus áramlás lehetővé teszi valamennyi oldott részecske egyidejű vizsgálatát, tekintet nélkül a részecske töltésére. A CE minimális mintamennyiséget (1-10 nl) igényel, könnyen automatizálható. A módszer egyik legnagyobb előnye a lehetséges alkalmazások rendkívül széles köre. Míg a kapilláris elektroforézist eleinte csak biológiai makromolekulák vizsgálatához használták, ma már alkalmazzák fémionok, szervesetlen anionok, szerves savak, aminosavak, királis vegyületek, peszticidek, peptidok és fehérjék, szénhidrátok, DNS fragmentumok, vagy akár egész sejtek és vírusok elválasztásához és meghatározásához is. Mivel az elektroforézises, illetve a kromatográfias elválasztások mechanizmusai eltérnek, így e vizsgálatok kölcsönösen kiegészíthetik egymást. Ezen kívül a CE módszer fejlesztése egyszerűbb, rendkívül kis oldatmennyiségekkel történő, gyakorlatilag szerves oldószerektől mentes munkát tesz lehetővé, és minimális minta-előkészítést igényel.

A kapilláris elektroforézis módszer fogalma különböző elválasztási technikákat foglal magába, amelyek közül a legalapvetőbbek a kapilláris zónaelektroforézis (CZE), a micelláris elektrokinetikus kromatográfia (MEKC), a kapilláris izoelektromos fókuszálás (CIEF), a kapilláris gélelektroforézis (CGE), a kapilláris elektrookromatográfia (CEC) és a kapilláris izotachoforézis (CITP). A CZE jelenleg a leggyakrabban használt kapilláris elektroforetikus módszer, mely az oldott részecskék különböző elektroforetikus mozgékonyágán alapszik.

A kapilláris elektroforézis elve

Az elektroforetikus elválasztási módszerek elve, hogy elektromos erőterben az oldott anyagok különböző sebességgel vándorolnak. Mivel egy ion sebességét az ion töltése, mérete, az alkalmazott térerősség nagysága, illetve a közeg viszkozitása szabja meg, a kis méretű, nagy töltésű részecskék rendelkeznek a legnagyobb sebességgel.

A CE működésének egyik fontos eleme az elektroosmotikus áramlás (electroosmotic flow, EOF). Az EOF a folyadék kapillárisbeli tömegtranszportja, mely a kapilláris belső falán kialakult felületi töltések (kettős réteg) következménye. A kapillárisbeli EOF fontos jellemzője a lapos áramlási profil (1-a ábra). Mivel az áramlás hajtóereje egyenletesen oszlik el a kapillárisban, egyáltalán nincs nyomásesés a kapillárison belül, s így az áramlás teljesen egyenletesnek tekinthető. A lapos áramlási profil következtében a részecskék zónáinak diszperziója csak kis mértékű. Ennek ellenkezője igaz a nyomáskülönbség hatására (pl. pumpákkal) előállított lamináris vagy parabolikus áramlásokra (1-b ábra).



1. ábra. Áramlási profilok és részecske zónák kapilláris elektroforézisnél (a) és kromatográfias technikáknál (b)

Az EOF egy másik fontos előnye, hogy az gyakorlatilag az összes részecskét, függetlenül azok töltésétől, azonos irányú mozgásban tartja. A szokásos körülmények mellett (vagyis amikor a kapilláris belső felülete negatív töltésű) az áramlás az anódtól a katód irányába történik. A katód felé nem csak a kationok vándorolnak, de az anionok is, mivel az EOF akár egy nagyságrenddel is nagyobb lehet az anionok sebességénél. Így a kationok, töltés nélküli részecskék és anionok akár egyetlen CE-s „futtatással” is elemezhetők. A folyamatot a 2. ábra mutatja be. A kationok vándorolnak a leggyorsabban a katód felé az elektroforetikus vonzóerő és az EOF miatt; a töltés nélküli részecskéket kizárólag az

* Debreceni Egyetem, Szervesetlen és Analitikai Kémiai Tanszék, 4010 Debrecen, Pf.21., gaspara@tigris.klte.hu