

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
Институт химии  
Кафедра аналитической химии

А. В. Булатов, К. С. Вах, И. И. Тимофеева, А. Ю. Шишов,  
А. С. Почивалов, Л. Н. Москвин

# ПРОТОЧНЫЙ ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ

Санкт-Петербург  
2022

УДК 543.054  
ББК 24.4  
Б90

*Рекомендовано учебно-методической комиссией Института химии СПбГУ  
Одобрено на заседании кафедры аналитической химии  
Института химии СПбГУ*

Рецензенты:  
доктор хим. наук, проф. КНИТУ  
**С. Ю. Гармонов**  
доктор хим. наук, с. н. с. МГУ  
**В. В. Аляри**

Авторы: А. В. Булатов, К. С. Вах, И. И. Тимофеева, А. Ю. Шишов,  
А. С. Почивалов, Л. Н. Москвин

**Булатов А. В., Вах К. С., Тимофеева И. И.**

Б90 Проточный химический анализ. Учебное пособие / А. В. Булатов, К. С. Вах, И. И. Тимофеева, А. Ю. Шишов, А. С. Почивалов, Л. Н. Москвин. — СПб.: изд-во ВВМ, 2022.— 88 с.

ISBN 978- 5-9651-1401-6

В учебном пособии кратко изложены основные представления о проточных методах анализа, рассматриваются их аналитические возможности с точки зрения автоматизации и миниатюризации химического анализа. Особое внимание уделяется методам разделения и концентрирования, используемым в проточном анализе, и инструментальным решениям. Учебное пособие предназначено для студентов Института химии СПбГУ.

© А. В. Булатов, К. С. Вах, И. И. Тимофеева,  
А. Ю. Шишов, А. С. Почивалов,  
Л. Н. Москвин, 2022

ISBN 978-5-9651-1401-6

© СПбГУ, 2022

## Содержание

Принятые условные сокращения . . . . .	4
Введение . . . . .	5
1. Непрерывный проточный анализ . . . . .	8
2. Проточно-инжекционный анализ . . . . .	11
3. Последовательный инжекционный анализ . . . . .	18
4. Перекрестный инжекционный анализ . . . . .	26
5. Контролируемая дисперсия пробы в неравновесных проточных методах . . . . .	29
6. Зонный флюидный проточный анализ . . . . .	35
7. Проточно-порционный и последовательный инжекционный анализ со смесительной камерой . . . . .	39
8. Циклический инжекционный анализ . . . . .	42
9. Многокомпонентный проточный анализ . . . . .	45
10. Микрофлюидные устройства на принципах проточных методов . . . . .	54
11. Методы разделения и концентрирования, используемые в проточных методах . . . . .	60
11.1. Мембранные методы . . . . .	60
11.2. Жидкостная экстракция . . . . .	64
11.3. Сорбционные методы . . . . .	70
11.4. Хроматомембранный массообменный процесс и хроматомембранные методы . . . . .	74
12. Классификация проточных методов и сравнение их аналитических возможностей . . . . .	78
13. Области практического применения методов проточного анализа . . . . .	80
Рекомендуемая литература . . . . .	85
Приложение 1. Русско-английский словарь терминов . . . . .	86
Приложение 2. Некоторые полезные интернет-сайты . . . . .	87

## Принятые условные сокращения

АСАК	– автоматизированные системы аналитического контроля
ВЕ	– вспомогательная емкость
ВУП	– вспомогательные устройства пробоподготовки
ВЭЖХ	– высокоэффективная жидкостная хроматография
МКЦИА	– мультикоммутационный циклический инъекционный анализ
НПА	– непрерывный проточный анализ
ПИА	– проточно-инъекционный анализ
ПТФЭ	– политетрафторэтилен
РЕ	– реакционная емкость
СК	– смесительная камера
ЦИА	– циклический инъекционный анализ
μЦИА	– микрофлюидный циклический инъекционный анализ
ХМЯ	– хроматомембранная ячейка
ВИА	– последовательный инъекционный анализ с инъекцией частиц
СЕ	– капиллярный электрофорез
СИА	– перекрестный инъекционный анализ
FB	– проточно-порционный анализ
LOV	– «лаборатория на кране»
MPFS	– мультинасосный проточный анализ
MSFIA	– мультишприцевой проточно-инъекционный анализ
SIA	– последовательный инъекционный анализ
SIC	– последовательная инъекционная хроматография
ZF	– зонный флюидный анализ

## Введение

Методы химического анализа с точки зрения общей схемы измерения аналитического сигнала можно достаточно условно разделить на статические и проточные. Первые предполагают, что измерение аналитического сигнала производится в условиях строго фиксированного положения анализируемой пробы или выделенного из неё концентрата аналитов относительно средства измерения. Для вторых необходимым условием является пространственное перемещение пробы относительно детектирующей системы в процессе измерения аналитического сигнала.

В статической схеме вся совокупность аналитических процедур, объединяемых общим понятием химический анализ: пробоотбор, пробоподготовка, градуировка аналитических приборов и измерение аналитического сигнала, рассматривается как самостоятельные последовательные операции, объединяемые только конечной целью получения результата — данных о содержании определённого аналита или аналитов в объекте анализа.

Появившаяся во второй половине 20-го века схема проточного анализа предполагает объединение всех стадий химического анализа в единую поточную линию — своего рода конвейер, на котором последовательно выполняются все операции, предусмотренные методикой анализа. Осуществляется отбор аликвоты пробы или, если в этом есть необходимость, — производится концентрирование аналитов из пробы анализируемой среды, проводятся химические реакции с целью получения аналитических форм, и, наконец, измеряется аналитический сигнал. Чтобы организовать подобную поточную линию создается поток или самой анализируемой среды, или специально подаваемой в проточный анализатор жидкости-носителя, в которую вводятся аликвоты проб. Этот поток проходит через систему коммуникаций, обеспечивающих последовательное воспроизведение через определённые промежутки времени всех перечисленных выше процедур. Подобная система обычно называется гидравлической схемой проточного анализа.

Обобщающее понятие «проточный анализ» (Flow analysis) не является синонимом понятию «анализ в потоке» (Analysis in flow), относящемуся только к частному случаю контроля состава анализируемой среды, естественно или искусственно перемещающейся в пространстве. Например, речной воды, воды в сточной канаве на линии сброса промышленного предприятия, или водной среды в специальной байпасной или пробоотборной линии. Последний вариант проточных методов по своей схеме может рассматриваться как частный случай проточного анализа в целом.

Любая из схем проточного анализа по определению позволяет анализировать только флюидные, то есть текущие среды — жидкости и газы. Применительно к анализу газов подобные схемы анализа возникли существенно раньше, но не были выделены в специальное направление в анализе. Исторически сам термин «проточный анализ» возник и используется применительно к анализу водных растворов. Однако существуют возможности использования его методологии для анализа проб в любом агрегатном состоянии: жидком, газообразном и даже твёрдофазном, а также для реализации комбинированных схем, предполагающих перевод аналитов из одной фазы в другую, создающую лучшие условия для их детектирования в потоке. Примером подобных схем анализа может служить анализ газообразных сред с жидкостно-абсорбционным выделением примесей, способных к образованию в водных растворах легко определяемых аналитических форм. Например, в простейшем случае выделения галогеноводородов такими формами являются ионы галогенов, для определения которых существуют широкодоступные ионселективные электроды.

Известно довольно большое число проточных методов анализа, которые по критерию условий образования аналитических форм в проточной системе и детектирования можно условно разделить на две группы: «неравновесные» и «равновесные» методы. В неравновесных проточных методах аналитический сигнал измеряется в условиях, когда в реакции образования аналитических форм не достигнуто химическое равновесие в системе аналит-реагент и (или) не обеспечено «физическое» равновесие, т.е. не до конца прошло смешение растворов. В «равновесных» проточных методах специально создаются условия для достижения равновесия в реакциях образования аналитических форм, что обеспечивает возможность сохранения чувствительности проточных методик анализа на уровне их стационарных аналогов.

Проточные методы анализа нашли широкое применение для автоматизации методик химического анализа, выполняемых как по традиционной схеме анализа предварительно отобранных проб (анализ «off-line»), так и для создания автоматизированных систем контроля с непрерывным отбором проб (анализ «on-line»). Проточные анализаторы характеризуются высокой производительностью, а в зависимости от специфики проточного метода позволяют в той или иной степени минимизировать расход пробы и растворов реагентов по сравнению со стационарными аналогами тех же методик. Принцип строгого постоянства всех физических параметров проточных систем: диаметра каналов гидравлической схемы, скоростей потоков и температуры — обеспечивает высокую воспроизводимость результатов анализа.

Отмеченные достоинства проточных методов анализа привели к их широкому внедрению в аналитическую практику при решении задач автоматизации и миниатюризации химического анализа. Общим вопросам методологии проточных методов анализа и их отдельным приложениям посвящено большое количество монографий, обзоров и оригинальных статей. Регулярно проводятся международные конференции «Flow Injection Analysis» и «Flow Analysis». Японская ассоциация по проточно-инжекционному анализу (JAFIA) издает международный специализированный журнал «Journal of Flow Injection Analysis».

## 1. Непрерывный проточный анализ

Непрерывный проточный анализ (НПА) разрабатывался с ориентацией на создание автоматизированных систем контроля «on-line». Схема НПА представлена на рис. 1. Согласно этой схеме потоки пробы и раствора реагента, способного образовывать с аналитом регистрируемую проточным детектором аналитическую форму, постоянно подаются перистальтическим насосом, смешиваются в смесительной спирали и направляются в детектор и далее на сброс. Поскольку схемой НПА не предусмотрено регулирование времени от момента смешения пробы с раствором реагента до момента прохождения смешанного раствора через детектор этот вариант проточного анализа можно отнести к числу неравновесных.



Рис. 1. Схема НПА.

Для автоматизации методик анализа «off-line» в 1957 г. был предложен вариант НПА с сегментированными потоками. В этом варианте НПА (рис. 2) создаваемый с помощью перистальтического насоса непрерывный поток пробы делится пузырьками газа на сегменты, после чего смешивается с потоком раствора реагентов в смесительной (реакционной) спирали и следует в проточный детектор, перед которым производится удаление из него пузырьков газа в мембранном сепараторе. Сегментация проб пузырьками воздуха предотвращает их смешение в гидравлической схеме и обеспечивает более эффективное перемешивание зон пробы и реагентов по сравнению с НПА.

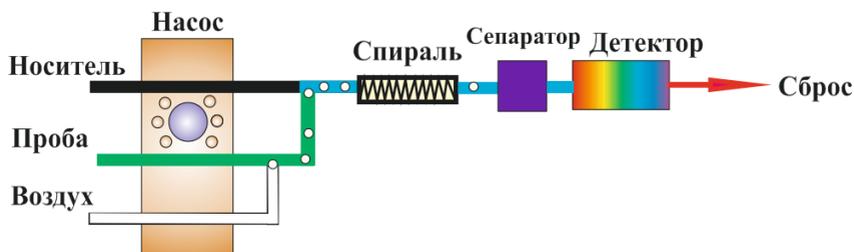


Рис. 2. Схема НПА с сегментированными потоками.

НПА первым из проточных методов получил распространение в аналитической практике для автоматизации химического анализа различных объектов. Так, на принципах НПА, разработаны автоматизированные системы непрерывного определения биогенных элементов в природных водах. На рис. 3 представлена гидравлическая схема НПА определения в природных водах кремния на анализаторе «Алпкем» (США), предполагающая определение аналита по двухстадийной реакции образования восстановленного молибдокремниевого гетерополикомплекса. Для устранения мешающего влияния фосфат-ионов в процедуре используют раствор винной кислоты, который подают с помощью перистальтического насоса в реакционную смесь перед введением раствора восстановителя — хлорида олова (II).

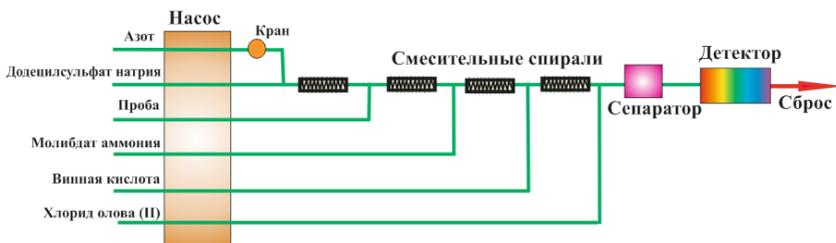


Рис. 3. Гидравлическая схема НПА определения в природных водах кремния.

Помимо анализа водных проб НПА нашел применение для анализа почв и автоматизации функционального анализа органических соединений. На рис. 4 в качестве иллюстрации приведена схема непрерывного проточного определения карбонильных групп в органических растворителях. Согласно схеме НПА, непрерывно происходит

смешение пробы, воздуха и раствора солянокислого динитрофенилгидразина в смесительной спирали (70<sup>0</sup>С). В нагретый поток добавляется спиртовой раствор гидроксида калия и измеряется оптическая плотность раствора аналитической формы. Предложенная методика позволила анализировать 40 проб в час вместо двух в статическом режиме. Объёмы пробы и растворов реагентов, необходимые на выполнение одного анализа, составили 0,5 и 11 мл соответственно.

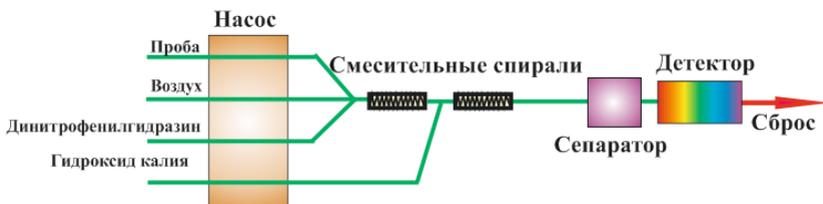


Рис. 4. Схема НПА определения карбонильных групп в органических растворителях.

Достоинством НПА является получение непрерывной информации о содержании аналитов в пробе в масштабе времени, близком к реальному. Отставание от реального времени определяется временем доставки от объекта анализа до проточного детектора как самой пробы, так и растворов, полученных после её смешения с растворами реагентов. Это достоинство является существенным в довольно редком случае наблюдения за процессами со спонтанными изменениями состава пробы, происходящими с большой частотой, когда важно не пропустить ни одну флуктуацию состава контролируемой среды. В тоже время НПА имеет целый ряд ограничений. Во-первых, схема НПА исключает возможность контроля правильности показаний детектора в процессе выполнения анализа т.к. не выполняется измерение фонового сигнала. Во-вторых, непрерывная схема требует относительно большого расхода реагентов, который может быть оправдан только важностью информации, получаемой в адекватных этому методу случаях контроля потенциально опасных процессов или получения новой научной информации о быстро протекающих процессах.

## 2. Проточно-инжекционный анализ

В 1975 г. Ружичка и Хансен предложили вторую разновидность непрерывного проточного анализа — проточно-инжекционный анализ (ПИА), схема которого предполагает периодическое введение дискретных порций пробы в непрерывный ламинарный несегментированный поток носителя. Перемещение потоков по коммуникациям схемы ПИА обычно осуществляется с помощью перистальтического насоса, а введение дискретных порций пробы в поток носителя производится с помощью крана-дозатора. Взаимное смешение растворов реагентов и пробы происходит в смесительных спиральных под действием конвекции и диффузии. При этом регистрируемый аналитический сигнал после прохождения пробы по каналам гидравлической схемы приобретает форму асимметричного пика.

На рис. 5 представлена типичная для ПИА трехканальная схема, согласно которой поток носителя с введенной в него с помощью крана-дозатора зоной пробы объединяется с потоком раствора реагентов и смешивается с ним в смесительной спирали и далее направляется в детектор, который непрерывно регистрирует аналитический сигнал, величина которого функционально связана с концентрацией определяемого вещества в пробе.

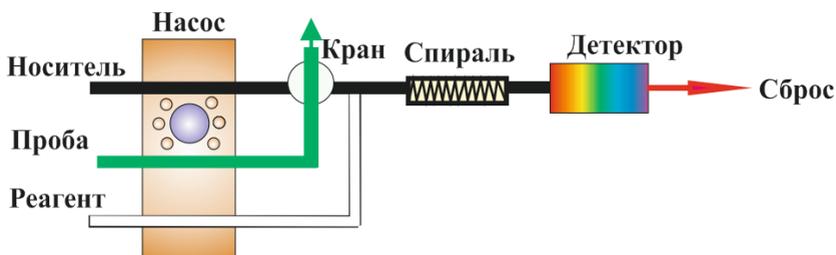


Рис. 5. Схема проточно-инжекционного анализа.

Основными характеристиками аналитического сигнала в ПИА (рис. 6) являются:  $t$  — время движения пробы от момента ее ввода

в поток носителя до момента регистрации проточным детектором аналитического сигнала и  $h$ — амплитуда сигнала (высота пика). Как правило, время  $t$  составляет от десятков секунд до единиц минут в зависимости от длины гидравлических трасс. Как уже отмечалось выше, химические реакции в проточной системе могут проходить не до конца и соответственно, аналитический сигнал в ПИА измеряется в неравновесных условиях. Воспроизводимость результатов обеспечивается за счет строгого постоянства времени переключения системы коммутации потоков и скорости всех потоков в гидравлической схеме. Концентрацию аналита определяют по градуировочному графику, который строится по амплитудам пиков, полученных при введении в систему вместо потока пробы стандартных растворов аналитов.

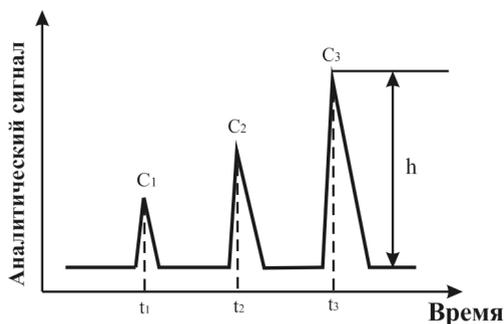


Рис. 6. Форма аналитического сигнала в ПИА ( $C_i$  — концентрация аналита;  $t_i$  — время движения пробы от момента ее ввода в поток носителя до ее поступления в проточный детектор;  $h$  — амплитуда сигнала).

На рис. 7 в качестве иллюстрации приводится четырёхканальная схема проточно-инжекционного фотометрического определения ионов железа (II, III) в воде, в основе которой лежит реакция окисления вариаминового синего пероксидом водорода в присутствии аналита. Согласно данной методике, на первом этапе производится измерение фонового сигнала. Для этого поток дистиллированной воды, используемой в качестве носителя, смешивается с раствором вариаминового синего в смесительной спирали, после чего смешанный поток перемешивается с потоком раствора пероксида водорода в термостатируемой реакционной спирали ( $60^\circ\text{C}$ ). Оптическая плотность фонового раствора измеряется в непрерывном режиме

в проточном детекторе. На втором этапе в поток носителя с помощью крана-дозатора инжектируется порция пробы (50 мкл), далее производится измерение аналитического сигнала по той же схеме. Методика позволяет определять содержание ионов железа (II, III) в диапазоне концентраций от 1 до 26 мкг/л с производительностью 25 определений в час.

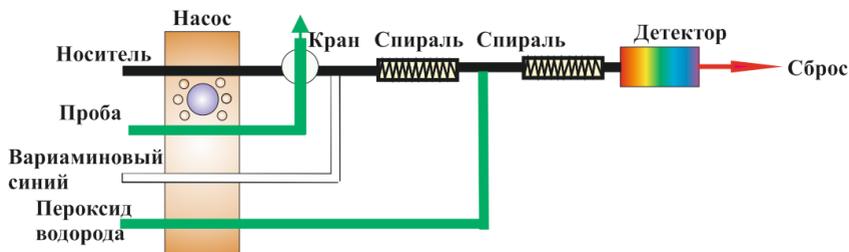


Рис. 7. Схема проточно-инжекционного фотометрического определения ионов железа (II, III) в воде.

ПИА гарантирует высокую воспроизводимость результатов. Относительное стандартное отклонение, как правило, не превышает 0,5%. В ПИА помимо режима непрерывного измерения аналитического сигнала при прохождении носителя через детектор можно производить его измерения в режиме остановленного потока. В этом случае с помощью компьютера по заданной программе производится остановка потока в строго определённый момент времени, когда зона аналита достигает проточной кюветы детектора. Этот момент может соответствовать максимуму пика или какой-либо другой его точке, в зависимости от концентрации аналита. После этого в течение определённого времени регистрируется аналитический сигнал (рис. 8). Такие измерения повторяют для различных концентраций и по угловым коэффициентам ( $\alpha$ ) кинетических кривых строят градуировочную зависимость в координатах  $\alpha$  от концентрации аналита в градуировочном растворе.

Метод ПИА в режиме остановленного потока нашёл применение при проведении ферментативного анализа, в частности, для определения глюкозы по реакции её окисления в присутствии фермента глюкозооксидазы. В случае этой методики при времени остановки потока 20 с, диапазон определяемых содержаний глюкозы составляет от 500 до 2500 мг/л.

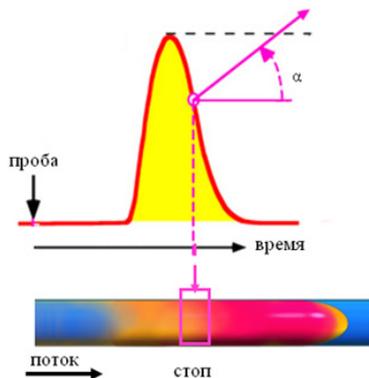


Рис. 8. Форма аналитического сигнала в ПИА в режиме остановленного потока.

Для повышения информативности о контролируемом процессе в условиях ПИА, был предложен комбинированный проточный метод, объединяющий достоинства ПИА и НПА. Он заключается в чередовании по заданному алгоритму режимов функционирования проточного анализатора. Для получения аналитической информации даже о кратковременных флуктуациях состава пробы в период его возможных спонтанных изменений анализатор основную часть времени функционирует в режиме НПА, а для проверки правильности показаний детектора анализатор переключается в режим ПИА с периодической подачей на его вход стандартных растворов. При этом появляется возможность проверить положение базовой линии детектора и величину его отклика на определенную концентрацию аналита.

На рис. 9 представлен вид аналитического сигнала, регистрируемого при чередовании режимов НПА и ПИА. В период времени от 0 до  $t_1$  анализатор функционирует в режиме НПА с подачей на вход анализируемой пробы. В момент времени  $t_1$  происходит переключение анализатора в режиме ПИА с сохранением подачи на вход той же пробы, о чем свидетельствует равенство амплитуд пиков и величины непрерывного сигнала. В момент времени  $t_2$  на вход начинает подаваться стандартный раствор аналита, а в момент  $t_3$  анализатор снова переключается в режим НПА с подачей на вход той же пробы.

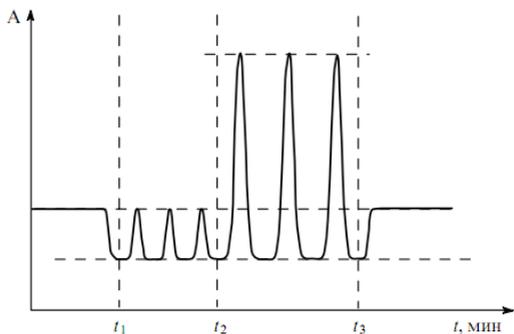


Рис. 9. Форма аналитического сигнала, регистрируемого при последовательной работе проточного анализатора в режимах НПА и ПИА.

Помимо последовательного анализа проб ПИА позволяет реализовать процесс титрования (рис. 10). При определении концентрации кислоты в пробе, порция последней инжeksiруется в поток носителя — смешанного раствора щёлочи с кислотно-основным индикатором (бромтимоловым синим). Раствор пробы поступает в смесительную камеру, в которой происходит нейтрализация кислоты по мере поступления раствора носителя. В проточной кювете фотометрического детектора регистрируется изменение оптической плотности раствора индикатора. Формы получаемых аналитических сигналов представлены на рис. 11. По ширине пиков рассчитывают «промежутки времени»  $\Delta t$  (n), на основании которых определяют концентрацию кислоты в пробе по градуировочной зависимости, предварительно установленной по стандартным растворам кислоты. Методика позволяет производить определение концентрации соляной кислоты в диапазоне концентраций от 0,01 до 0,1 М при объёме пробы 30 мкл.

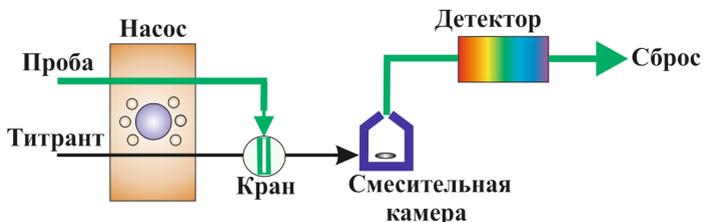


Рис. 10. Схема ПИА титрования.

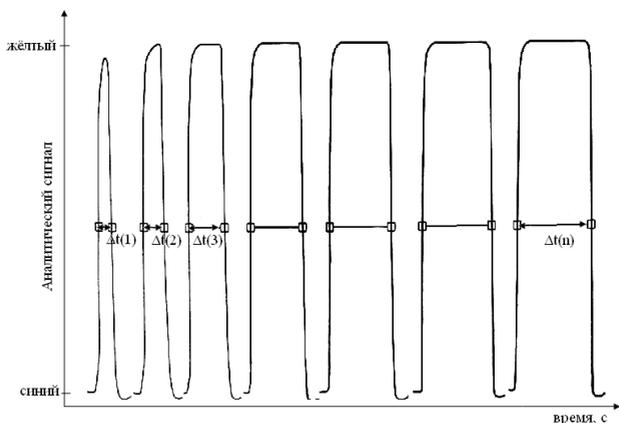


Рис. 11. Форма аналитического сигнала при титровании в ПИА.

Подобные схемы титрования в ПИА являются универсальными. В частности, они были реализованы для комплексометрического определения ионов цинка (II) с использованием в качестве носителя смешанного раствора ЭДТА и ксиленолового оранжевого.

На сегодняшний день метод ПИА нашёл широкое применение для автоматизации и миниатюризации химического анализа различных объектов, находящихся в жидком или газообразном состояниях. При автоматизации анализа твёрдофазных образцов схема анализа включает предварительную рутинную операцию растворения проб с последующим анализом в условиях ПИА приготовленных растворов. Наиболее распространёнными областями применения ПИА являются анализ объектов окружающей среды, фармацевтический, клинический и агрохимический анализ. Среди многочисленных способов детектирования: фотометрии, флуоресценции, потенциометрии и ААС в ПИА предпочтение отдаётся фотометрическому способу. В типичных условиях ПИА предполагает перемещение потоков со скоростями в диапазоне от 0,5 до 1 мл/мин, при этом объём вводимой пробы составляет от 1 до 200 мкл (обычно 50 мкл). В этом случае производительность может достигать до 200 проб в час.

К отмечавшимся выше достоинствам метода, таким как высокая воспроизводимость результатов анализа и большая производительность, дополнительно необходимо отметить, что осуществление химико-аналитических реакций в изолированной проточной системе

при отсутствии контакта растворов с атмосферой обеспечивает возможность определения химически неустойчивых аналитов и использования неустойчивых реагентов, генерируемых непосредственно в потоке.

Однако, метод ПИА не лишен и определенных недостатков. Помимо уже отмечавшихся выше следствий детектирования аналитов в неравновесных условиях образования их аналитических форм, недостатки ПИА проявляются в ограниченной применимости для создания систем автоматизированного контроля «on-line». По мнению автора метода Ружечки, «в первую очередь из-за необходимости ручной перекомпоновки гидравлических схем при переходе от одной методики анализа к другой, большого потребления растворов реагентов, частого обслуживания анализаторов и других подобных недостатков метод применим в приборах, предназначенных для лабораторного применения».

### 3. Последовательный инъекционный анализ

Следующим шагом в развитии проточного анализа явился последовательный инъекционный анализ (SIA), предложенный в 1990 г Ружичкой и Маршаллом и получивший к настоящему времени достаточно широкое распространение. В этой версии проточных методов достигнут существенный прогресс в унификации гидравлических схем. В данном случае вместо «сети» трубок, характерных для гидравлических схем ПИА, используется одна жидкостная линия, по которой с помощью реверсивного насоса движется поток раствора попеременно в двух противоположных направлениях (рис. 12). Гидравлическая схема SIA включает многоходовой кран-переключатель, удерживающую спираль, шприцевой или перистальтический реверсивный насос, реакционную спираль и проточный детектор.

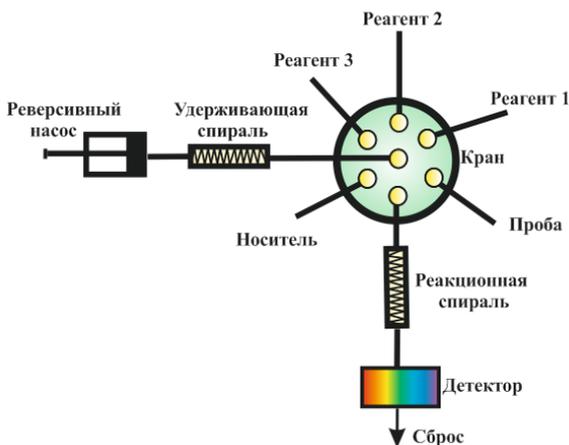


Рис. 12. Схема последовательного инъекционного анализа.

На первой стадии порции носителя, пробы и раствора реагента последовательно вводятся в удерживающую спираль. На второй стадии (после переключения крана и реверса насоса) зоны пробы и рас-

твора реагента движутся к детектору через реакционную спираль, при этом создается сложный концентрационный градиент, в котором зоны пробы и реагента частично перекрываются, образуя область, внутри которой образуется аналитическая форма. Аналитический сигнал, регистрируемый детектором, соответствует заштрихованной площади на рис. 13.



Рис. 13. Взаимное проникновение зон пробы и раствора реагента в SIA.

Перекрывание зон пробы (S) и раствора реагента (R) приводит к образованию зоны аналитической формы (S+R).

Для количественной оценки взаимного проникновения растворов реагентов и пробы используется параметр  $p$ —«степень взаимного проникновения»:

$$p = \frac{2w_2}{w_1 + w_3},$$

где  $w_2$ —ширина участка перекрывания зон, измеренная на уровне фоновой линии (рис. 13);  $w_1$  и  $w_3$ —ширина зоны пробы и реагента соответственно. Как правило, величина  $p$  находится между 0 и 1, что соответствует частичному перекрыванию. Точка  $I_d$  на рис. 13 называется «изодисперсионной».

Степень проникновения зон пробы и реагентов зависит от физических параметров системы (объема инжектируемой пробы, скорости потока, длины и диаметра трубок в гидравлических коммуникациях, объема и конфигураций удерживающих и реакционных спиралей, конструкции детектора) и от физико-химических свойств текущих растворов (вязкости, коэффициентов молекулярной диффузии).

Предложено три способа повышения эффективности проникновения зон пробы и реагентов: «остановка потока», «инъекция зоны промежутка», «зона промежутка с градиентом скорости». Для осуществления первого способа в удерживающую спираль инжектируют пробу и растворы реагентов, далее зоны пробы и реагентов направляют через смесительную спираль в детектор и останавливают поток. Во время остановки потока детектор фиксирует изменение аналитического сигнала, которое соответствует скорости протекания реакции образования аналитической формы аналита.

Второй подход предполагает последовательную инъекцию в удерживающую спираль порции пробы, растворов реагентов и «нейтрального» раствора, причём последний подаётся при больших скоростях, что обеспечивает лучшее перемешивание реагентов с пробой в аксиальном направлении.

Для реализации способа «зона промежутка с градиентом скорости» в удерживающую спираль отбирают порции носителя, пробы, раствора реагента и опять носителя. Если после этого резко изменить направление потока в удерживающей спирали, то носитель проталкивает зоны пробы и растворов реагентов друг в друга, наблюдается своего рода толчок. После этого при изменении реверса насоса зоны направляют в проточный детектор. Этот прием обеспечивает лучшее перекрывание зон компонентов.

В качестве одной из иллюстраций возможностей SIA рассматривается методика определения в водных средах цианид-ионов, основанная на реакции аналита с нингидрином. В удерживающую спираль (рис. 12) последовательно отбираются 800 мкл раствора гидроксида натрия, 200 мкл раствора нингидрина и 200 мкл пробы. После этого растворы из удерживающей спирали направляются через реакционную спираль в проточный детектор со скоростью 30 мкл/с, где производится измерение аналитического сигнала в непрерывном режиме. Методика SIA позволяет определять цианид-ионы в диапазоне концентраций от 2 до 7 мг/л с производительностью 45 определений в час.

Оценивая SIA в целом, помимо сказанного ранее, необходимо отметить широчайшие функциональные возможности метода, проявившиеся в целом ряде комбинированных методов. Такими комбинированными методами являются: последовательный инъекционный капиллярный электрофорез (SIA-CE), последовательная инъекционная хроматография (SIC) и последовательный инъекционный анализ с инъекцией частиц (BIA).

Показана возможность раздельного определения анионов при их совместном присутствии в условиях SIA-CE. В этом случае (рис. 14 А) в автоматизированном режиме производится отбор пробы,

пробоподготовка, детектирование, ускоренная промывка капилляра и при необходимости замена раствора электролита. Было показано, что в условиях SIA-CE удаётся существенно повысить чувствительность по сравнению со статическими аналогами, так для хроматоионов удалось снизить предел обнаружения на порядок. Типичная электрофореграмма представлена на рис. 14 Б.

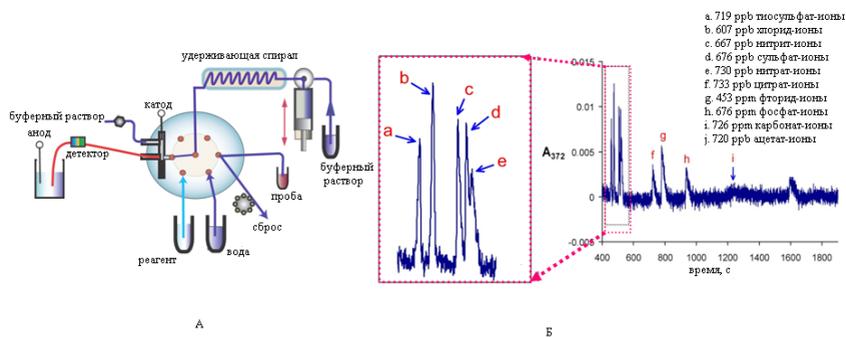


Рис. 14. А: схема SIA-CE; Б: электрофореграмма.

Предложено использовать схему SIA-CE для раздельного определения инсулина, проинсулина и с-пептида с их предварительной дериватизацией с флуорескамином непосредственно в проточной схеме. Продолжительность дериватизации составляет 10 с, после чего осуществляется электрокинетическая инжекция пробы и разделение аналитов в капилляре. Через каждые 10 измерений (разделений) производится автоматическая регенерация капилляра.

Следующим шагом на пути гибридизации последовательного инжекционного анализа с другими методами явилась последовательная инжекционная хроматография. Метод SIC предполагает совмещение возможностей жидкостной хроматографии и последовательного инжекционного анализа. Потoki пробы и растворы элюентов последовательно направляются через хроматографическую колонку схемы SIC с помощью шприцевого насоса и крана-переключателя (рис. 15). При этом SIC может быть реализована в вариантах обращенно-фазовой, ионообменной или аффинной хроматографии.

В SIC используют монолитные хроматографические колонки с высокой пористостью, что обеспечивает высокоэффективное разделение аналитов при небольших давлениях (до 2,5 МПа), создаваемых

в проточных системах. Монолитные колонки преимущественно имеют два типа пор: мезопоры (~10 нм), необходимые для разделения и макропоры (~2 мкм), необходимые для создания потока подвижной фазы.

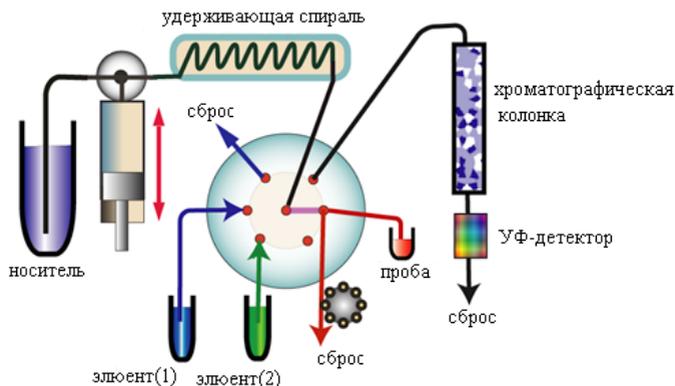


Рис. 15. Схема последовательной инъекционной хроматографии.

Показана возможность использования метода SIC для раздельного определения 18 аминокислот на монолитной колонке Опух C18 (4,6×25 мм). Хроматограмма, полученная для модельного раствора смеси аминокислот, представлена на рис. 16. Достигнуты пределы обнаружения аминокислот в диапазоне от 2 до 5 мкМ, время анализа составляет 450 с.

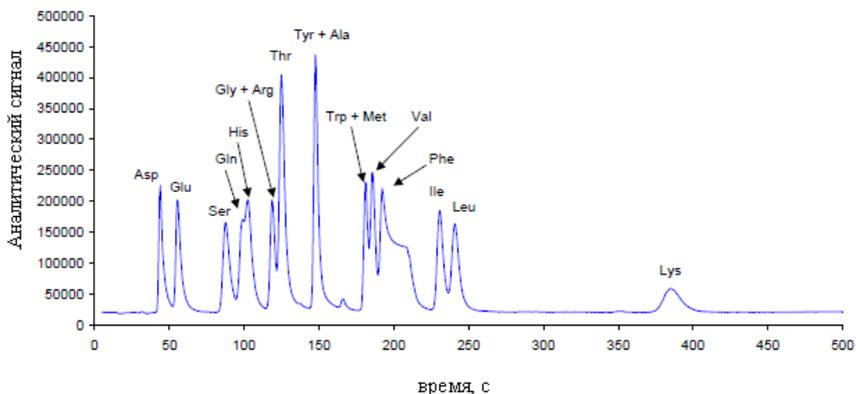


Рис. 16. Хроматограмма раствора смеси аминокислот.

Основные преимущества SIC по сравнению с высокоэффективной жидкостной хроматографией проявляются в снижении расходов реагентов и открывающейся возможности проведения реакций дериватизации в автоматизированном режиме, а также в миниатюризации приборов и снижении их стоимости. Комбинированный прибор оказывается дешевле жидкостного хроматографа в среднем в два раза.

Большое количество работ посвящено последовательному инжекционному анализу с инъекцией частиц. Изначальная схема ВИА была реализована в варианте ПИА. В этом случае на первом этапе суспензия модифицированных частиц инжектируется в поток носителя, которым частицы переносятся в зону удерживания (процесс «а» на рис. 17). Далее инжектируется проба (процесс «б»), которая проникает сквозь частицы, в результате чего аналит связывается с функциональными группами микрочастиц (процесс «в»). После этого в систему направляется порция раствора хромогенного реагента (процесс «г») в результате чего происходит образование окрашенной и флуоресцирующей аналитической формы непосредственно на поверхности модифицированных частиц (процесс «д»). На заключительном этапе частицы направляются в проточный спектрофотометрический/флуориметрический детектор (процесс «е») и на сброс.

При реализации схемы ВИА особое внимание уделяется размерам, форме и материалу модифицированных частиц. Частицы в оптимальном случае должны быть шарообразными с размерами от 20 до 150 мкм. Частицы с меньшими размерами сложно удержать в узлах гидравлических схем и обеспечивать через них поток пробы и растворов реагентов. Более крупные частицы застревают в проточных каналах. Предпочтение отдаётся «мягким» полимерным частицам, т.к. «жесткие» частицы (например, силикагель) постепенно повреждают кран-распределитель. В качестве наиболее удобного варианта частиц предложено использовать коммерческие сорбенты «Sephadex» и «Sephарозе».

Типичный объём инжектируемой суспензии модифицированных частиц составляет от 2 до 10 мкл, который содержит от 2000 до 10000 частиц. Очевидно, что в ВИА реализуется эффективное взаимодействие молекул аналита с реагентом на поверхности большого количества модифицированных частиц, следствием чего является зна-

чительное увеличение эффективности образования аналитических форм, что особенно важно при автоматизации методик, основанных на кинетически замедленных реакциях.

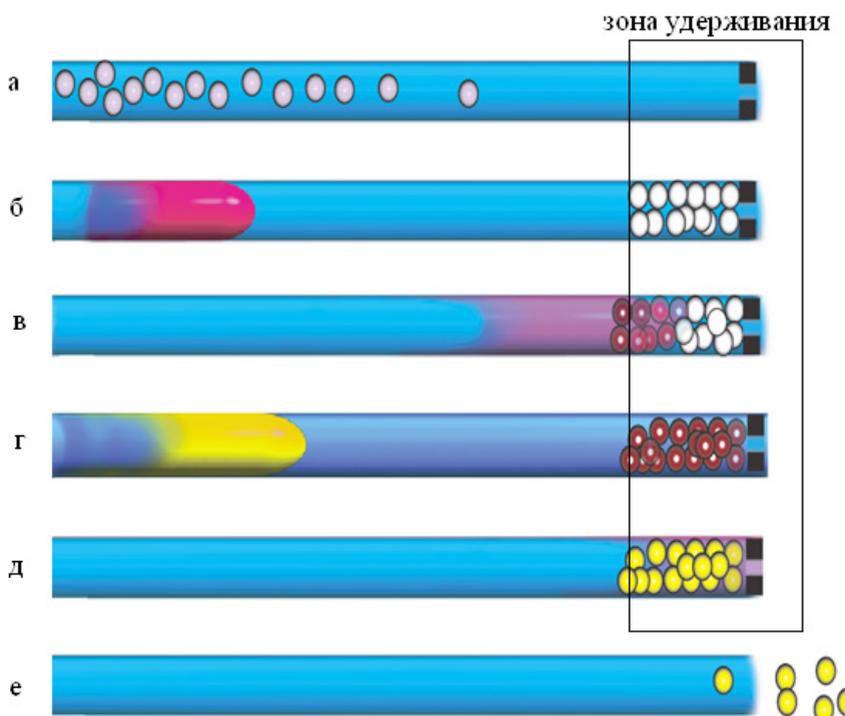


Рис. 17. Схема реализации проточного анализа в потоке модифицированных части.

ВИА был успешно применен для изучения процессов иммобилизации протеинов, с целью последующего использования полученных результатов в аффинной хроматографии и для изготовления биосенсоров. При пропускании растворов протеинов (рис. 18) через модифицированные частицы («Sephadex» или «Sepharose») происходит взаимодействие карбонильных групп частиц с аминогруппами протеинов с образованием основания Шиффа. Далее производится стабилизация иммобилизованных частиц при пропускании через них раствора цианоборгидрида натрия:

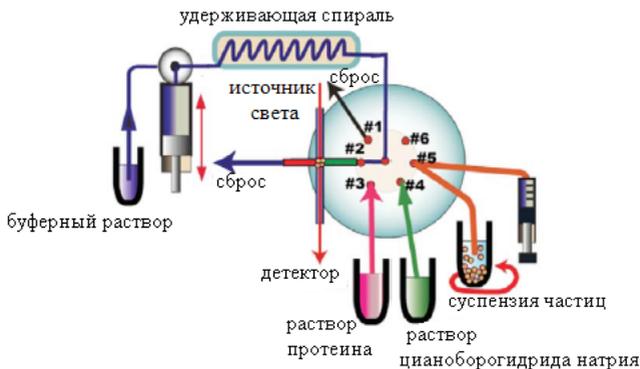
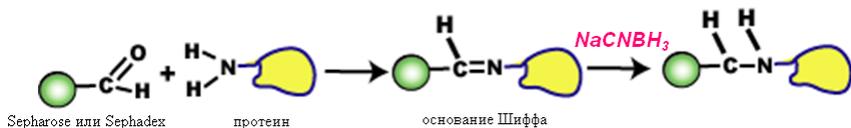


Рис. 18. Схема исследования процессов иммобилизации протеинов в режиме ВИА.

К бесспорным достоинствам SIA по сравнению с ПИА следует отнести уменьшение расхода реагентов и увеличение надежности работы анализатора. Наряду с отмечавшимися выше преимуществами SIA перед ПИА этот метод уступает ПИА по производительности.

## 4. Перекрестный инъекционный анализ

Идея использования строго воспроизводимых неравновесных условий образования аналитических форм аналитов помимо SIA нашла развитие в перекрестном инъекционном анализе (CIA). В CIA потоки пробы и растворов реагентов подаются перпендикулярно направлению потока носителя в специальной CIA ячейке, которая представляет собой платформу (акрил) с цилиндрическими каналами (объем ~ 5 мкл) (рис. 19 А).

Согласно схеме CIA (рис. 19 Б) в ячейку с помощью перистальтического насоса (1) подаются раствор реагента и проба, после этого насос (1) останавливается и в CIA ячейку с помощью перистальтического насоса (2) подается раствор-носитель, который переносит порции пробы и раствора реагента в смесительную спираль, где и происходит образование аналитической формы. Далее раствор аналитической формы следует в проточный детектор и на сброс. Аналитический сигнал в CIA, так же как в ПИА и SIA, имеет форму пика.

Схема CIA (рис. 19 Б) применялась для определения ионов железа (II, III) в воде. На первом этапе с помощью насоса 2 в горизонтальный канал CIA ячейки подается ацетатный буферный раствор, после чего насос 2 выключается. Далее в вертикальные каналы с помощью насоса 1 в течение 10 с подают пробу и растворы реагентов (1,10-фенантролин, аскорбиновая кислота, буферный раствор) направляя их на сброс 2, после чего насос 1 выключается. После чего кран меняет свое положение и в ячейку снова подают поток буферного раствора с помощью насоса 2. Поток буферного раствора обеспечивает перенос пробы и реагентов из CIA ячейки в детектор через смесительную спираль, где осуществляется перекрывание зон пробы и растворов реагентов и образование аналитической формы.

Концепция CIA позволяет снизить расход реагентов по сравнению с ПИА. Однако существует необходимость создания индивидуальной топологии CIA ячейки при решении каждой конкретной аналитической задачи.

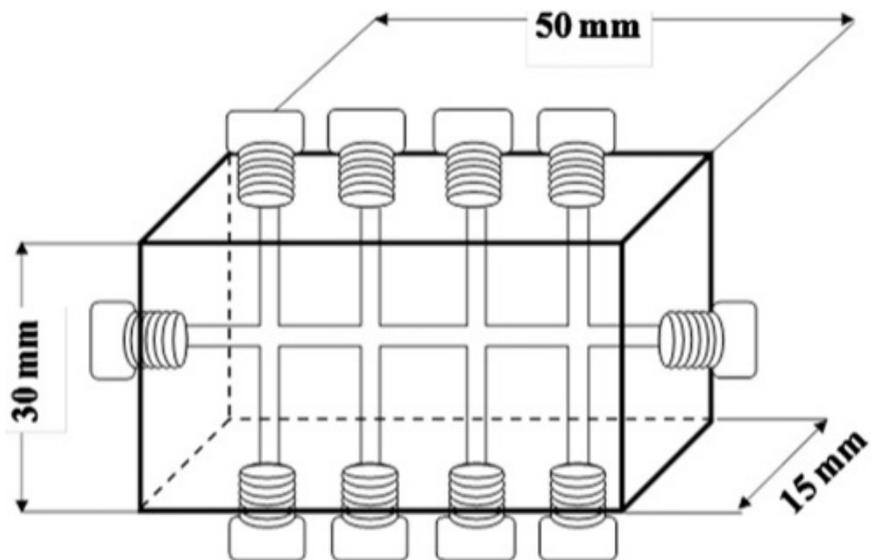
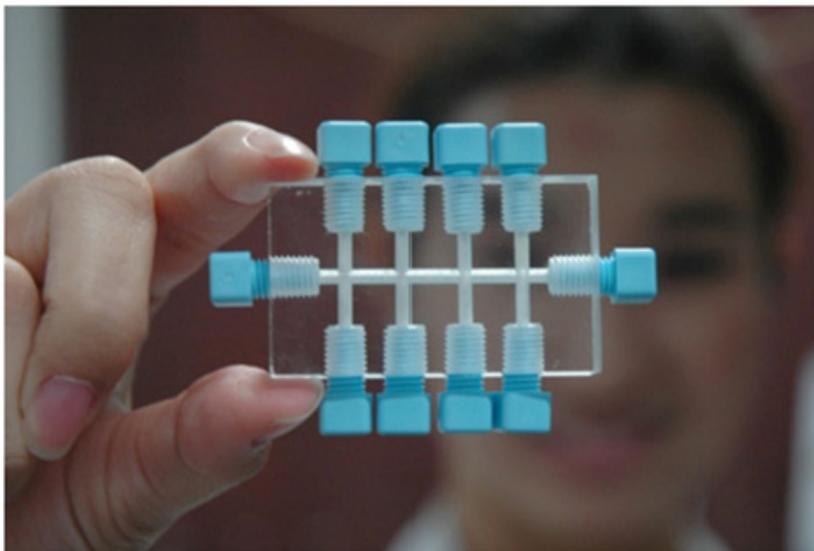


Рис. 19 А. СИА ячейка.

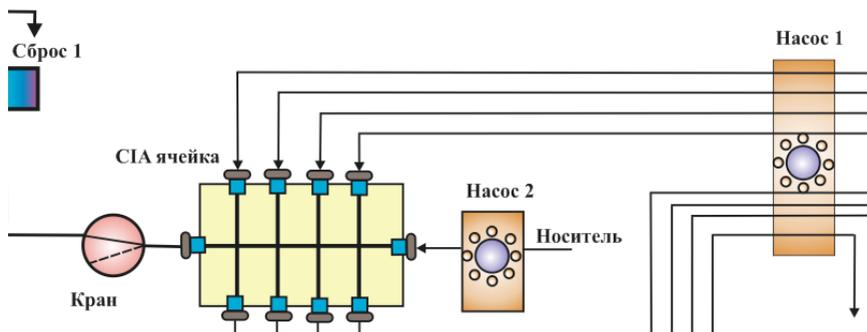


Рис. 19 Б. Схема перекрестного инъекционного анализа.

## 5. Контролируемая дисперсия пробы в неравновесных проточных методах

При реализации неравновесных проточных методов в процессе перемещения порции пробы в потоке носителя происходит ее физическая дисперсия — частичное размытие зоны пробы по мере ее прохождения по гидравлическим трассам (рис. 20).

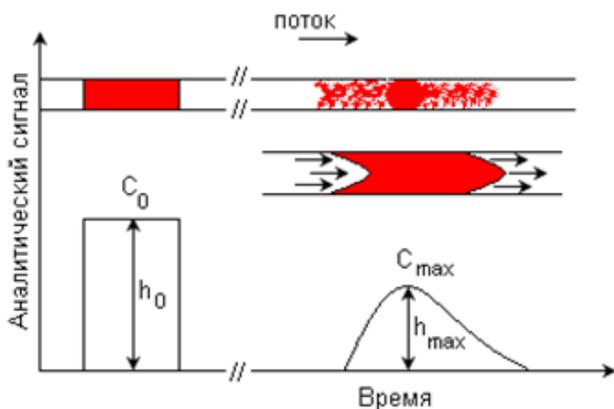


Рис. 20. Характер изменения концентрационного профиля и соответствующего аналитического сигнала по мере продвижения пробы в системе неравновесного проточного анализа:  $C_0$  ( $h_0$ ) и  $C_{\max}$  ( $h_{\max}$ ) — концентрации аналита и высоты пиков, соответствующие моментам ввода пробы и регистрации аналитического сигнала.

Форма пика в системе неравновесного проточного анализа при регистрации аналитического сигнала определяется общей дисперсией  $\sigma$ , которая складывается из трех слагаемых:

$$\sigma^2 = \sigma_{\text{и}}^2 + \sigma_{\text{д}}^2 + \sigma_{\text{а}}^2,$$

где  $\sigma_{\text{и}}$  — дисперсия пробы при вводе в систему;  $\sigma_{\text{д}}$  — дисперсия пробы в процессе транспортирования по каналу системы;  $\sigma_{\text{а}}$  — дисперсия пробы в детекторе.

При введении малых объемов пробы,  $\sigma$  и  $\sigma_d$  относительно незначительны, поэтому общая дисперсия преимущественно определяется дисперсией пробы в процессе ее транспортировки по каналу системы. При этом дисперсия, а следовательно, и регистрируемая высота пика зависят как от физических параметров системы (объема инжектируемой пробы, скорости потока, длины и диаметра трубок и смесительных спиралей, конструкции крана-переключателя и детектора), так и от физико-химических свойств текущих растворов (вязкости, коэффициентов молекулярной диффузии).

В центре канала жидкость движется с максимальной линейной скоростью, в то время как слои, прилегающие к стенкам канала, остаются практически неподвижными, все это приводит к тому, что концентрационный профиль пробы изменяет свою форму по мере продвижения пробы от крана-переключателя к детектору. При этом происходит снижение высоты пика и соответствующее снижение чувствительности метода.

Таким образом, регистрируемый в системе неравновесного проточного анализа сигнал является функцией дисперсии пробы в движущемся потоке. В качестве характеристики степени дисперсии пробы в потоке используют коэффициент дисперсии  $D$ :

$$D = \frac{C_0}{C_{\max}},$$

где  $C_0$  — концентрация аналита в момент ввода пробы в поток носителя ( $\sigma \approx 0$ );  $C_{\max}$  — концентрация аналита, соответствующая максимуму регистрируемого пика.

Простейший способ измерения коэффициента дисперсии состоит в том, что строго определённый объём раствора красителя с известной концентрацией вводят в поток носителя и непрерывно контролируют оптическую плотность раствора, проходящего через проточный фотометрический детектор. Дополнительно измеряют оптическую плотность исходного раствора красителя при его непосредственной инъекции в кювету проточного детектора. Экспериментально коэффициент дисперсии рассчитывается по уравнению:

$$D = \frac{h_0}{h_{\max}},$$

где  $h_{\max}$  — максимальная величина аналитического сигнала, измерен-

ного при прохождении раствора красителя в потоке носителя;  $h_0$  — величина аналитического сигнала, измеренного при заполнении кюветы детектора исходным раствором красителя.

Коэффициент дисперсии больше или равен 1. В зависимости от значения  $D$  предложено проточно-инжекционные системы разделять на три группы:

системы с ограниченной дисперсией:  $1 < D \leq 2$ ;

системы со средней дисперсией:  $2 < D \leq 10$ ;

системы с высокой дисперсией:  $D > 10$ .

Переход от систем с высокой дисперсией к системам с ограниченной дисперсией достигается минимизацией длины и диаметра шлангов, образующих гидравлическую схему и оптимизацией конфигурации смесительных спиралей.

С точки зрения максимальной величины аналитического сигнала при прочих равных условиях предпочтительными могут казаться системы с ограниченной дисперсией, но они приводят к максимальной потере чувствительности методик по сравнению со статическими аналогами в случае реакций с замедленной кинетикой образования аналитических форм аналитов. Связано это с минимизацией в них объемов гидравлических трасс, а соответственно и времени прохождения по ним растворов до момента поступления в детектор.

Наиболее широкое распространение получили системы со средней дисперсией пробы, в которых в той или иной степени скомпенсированы потери в чувствительности за счёт размытия зоны в гидравлических трассах и за счёт неравновесности условий образования аналитических форм.

В системах с высокой дисперсией максимальный вклад в снижение в чувствительности даёт размытие зоны пробы. В определенной степени его удастся уменьшить в специфическом варианте проточных систем, в которых смесительные спирали заменяются на перемешиваемые емкости. Системы с высокой дисперсией, предполагающие замену смесительной спирали на перемешивающее устройство, находят применение преимущественно в проточно-инжекционном титровании.

Независимо от характера ПИА системы с увеличением объема инжектируемой пробы высота пика возрастает и достигает предела (рис. 21), называемого «стационарным состоянием». В этом состоянии регистрируемый аналитический сигнал соответствует концен-

трации аналита в пробе  $C_0$ , а величина коэффициента дисперсии составляет  $D=1$ . Восходящие участки всех кривых совпадают и имеют одну и ту же форму независимо от объема пробы. В этих условиях:

$$\frac{1}{D} = 1 - 2^{-\frac{V_s}{V_{1/2}}},$$

где  $V_s$ —объем пробы;  $V_{1/2}$ —объем пробы, соответствующий величине сигнала, равной 50% от стационарного состояния, т. е. при  $D=2$ .

На практике в ПИА только в исключительных случаях работают в условиях стационарного состояния. Обычно объем вводимой пробы не превышает  $2V_{1/2}$  в случае ограниченной дисперсии и составляет менее  $V_{1/2}$  в остальных случаях. Начальная часть восходящего участка пика вплоть до точки, соответствующей  $D=2$ , является практически линейной. Соответственно, в условиях средней и высокой дисперсии высота пика прямо пропорциональна объему вводимой пробы. При этом происходит потеря чувствительности методик ПИА по сравнению со статическими аналогами более чем в два раза.

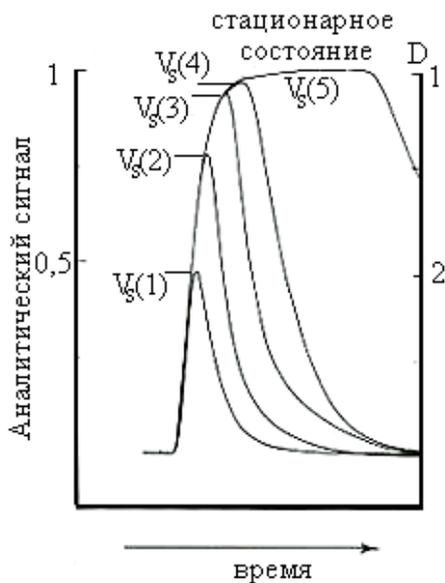


Рис. 21. Характер изменения пиков в ПИА от объема инжестируемой пробы ( $V_s(1) < V_s(2) < V_s(3) < V_s(4) < V_s(5)$ ).

Известен характер влияния внутреннего радиуса трубок ( $r$ ), используемых для создания коммуникаций ПИА. Снижение радиуса трубки приводит к уменьшению величины  $V1/2$ , т.к. для пробы одного и того же объёма протяжённость её зоны ( $\Theta$ ) при этом возрастает. Объём вводимой пробы равен:  $V_s = \pi r^2 \Theta$ . Соответственно, при уменьшении радиуса трубки в два раза протяжённость зоны пробы увеличивается в четыре раза, а величина  $V1/2$  — в четыре раза уменьшается. Поэтому при уменьшении радиуса трубок желательно корректировать объём пробы до изменившейся величины  $V1/2$ . Оптимальные значения внутреннего диаметра трубок в ПИА с учетом отмеченных тенденций составляют от 0,5 до 0,8 мм. При применении более узких каналов кроме отмеченных факторов возрастает опасность их забивания взвесьями, присутствие которых нельзя полностью исключить в пробах.

При разработке методик в системах со средней дисперсией, когда используются кинетически замедленные аналитические реакции, как правило, увеличивают время пребывания пробы в системе ПИА за счёт увеличения длины трубки/объёма спирали (1). При этом приходится идти на разумный компромисс между повышением чувствительности за счёт большей полноты протекания аналитической реакции и потерей чувствительности за счёт увеличения размытия зоны пробы и соответствующего увеличения ширины пика (рис. 22). Как правило, в ПИА общая длина гидравлических линий составляет от 10 до 100 см.

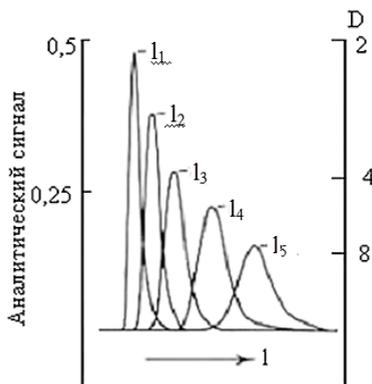


Рис. 22. Изменения ширины пиков в ПИА от длины гидравлической схемы ( $l_1 < l_2 < l_3 < l_4 < l_5$ ).

Эмпирически установлено, что коэффициент дисперсии пропорционален  $l_1/2r_2$ , где  $l$ — путь, пройденный зоной пробы по гидравлическим трассам ПИ-анализатора,  $r$ — радиус трубок. Таким образом, размытие зоны пробы возрастает пропорционально квадратному корню из величины пройденного пробой пути и квадрату радиуса трубки. Неоднозначно влияние скорости потока в гидравлических трассах. Обычно оно также возрастает с увеличением скорости потока. Но при очень низких скоростях потока размытие также увеличивается, поскольку в этих условиях начинают преобладать диффузионные эффекты. Оптимум, как правило, выбирается экспериментально.

## 6. Зонный флюидный проточный анализ

Одним из вариантов равновесного проточного анализа является зонный флюидный анализ (ZF). В этом методе (рис. 23) с помощью реверсивного насоса в удерживающую петлю через кран-переключатель подаются порции «флюида» (несмешиваемой с потоком пробы фазы — газа или жидкости), пробы (жидкость или газ) и раствора необходимых для образования аналитической формы реагентов и «флюида». После этого изолированный сегмент пробы в потоке носителя направляется в устройство пробоподготовки, которое может выполнять функцию химического реактора, сепаратора и т.д. На заключительном этапе раствор аналитической формы из этого реактора направляется в детектор.

В определенном смысле ZF может рассматриваться как возврат к схеме непрерывного проточного анализа с сегментированными потоками, но с использованием опыта, накопленного в процессе развития последовательного инъекционного анализа. Как и в случае НПА, сегментация зон позволила устранить дисперсию проб в потоке носителя.

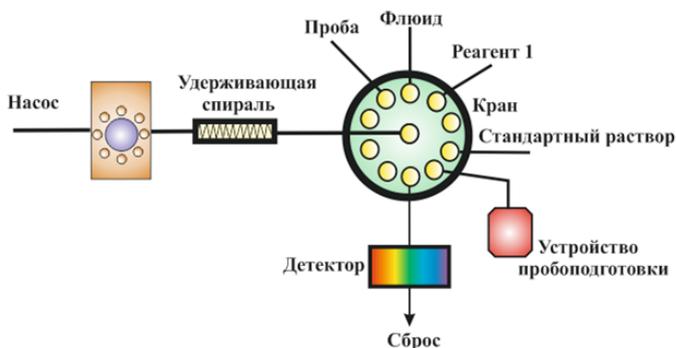


Рис. 23. Схема зонного флюидного анализа.

К настоящему времени метод ZF не нашёл широкого применения в аналитической практике. Разработано небольшое количество авто-

матризованных методик анализа биологических объектов. В частности, предложено использовать ZF для определения креатинина в моче. Для этого с помощью шприцевого насоса последовательно отбираются 100 мкл разбавленной пробы мочи (рис. 24 А), 100 мкл щелочного раствора пикриновой кислоты (РА), после чего растворы направляются в первый канал термостатируемого проточного фотометрического детектора (35 °С), где в режиме остановленного потока (20 с) происходит измерение аналитического сигнала. В этом случае регистрируются кинетические кривые (рис. 24 Б), по угловым коэффициентам которых строят градуировочный график. Параллельно производится выполнение вышеописанных операций и заполнение остальных трёх каналов многоканального детектора. В заключение осуществляется стадия промывки коммуникаций дистиллированной водой. Производительность разработанной методики — 70 проб в час, предел обнаружения — 0,8 мг/л.

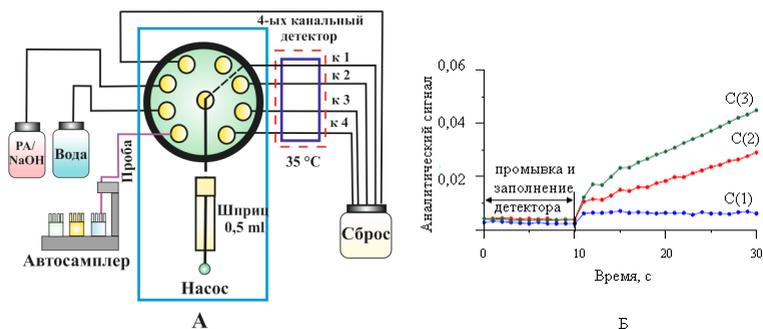


Рис. 24. А: Схема ZF определения креатинина в моче. Б: аналитического сигнала в ZF в режиме остановленного потока.

В ранее рассмотренных методах проточного анализа растворы реагентов готовятся в статических условиях. Емкости с приготовленными растворами коммутируют с проточными анализаторами. Очевидно, что подобные рутинные операции могут приводить к ошибкам вследствие проявления «человеческого фактора». Кроме того, ручная процедура приготовления растворов исключает возможность полной автоматизации анализа. С целью автоматизации операций приготовления растворов была изучена возможность растворения различных реагентов непосредственно в узлах схемы ZF. Так, для растворения лиофилизированного реагента были сделаны картриджи из однора-

зовых шприцов, на дно которых помещали пластинки из пористого стеклоцемента, обеспечивающие лучшее перемешивание растворов (рис. 25). Было проверено два способа растворения реагентов в картридже: растворение в потоке растворителя и при перемешивании пузырьками воздуха. Первый способ приводил к образованию неоднородного раствора, а второй — к гомогенному раствору. Приготовленный раствор реагента использовался для определения аденозин-5-трифосфата (АТФ) в условиях ZF с хемолюминесцентным детектированием. Параллельно производилось определение АТФ в статических условиях. Полученные результаты в автоматизированных и статических условиях совпадают в пределах 3 %.

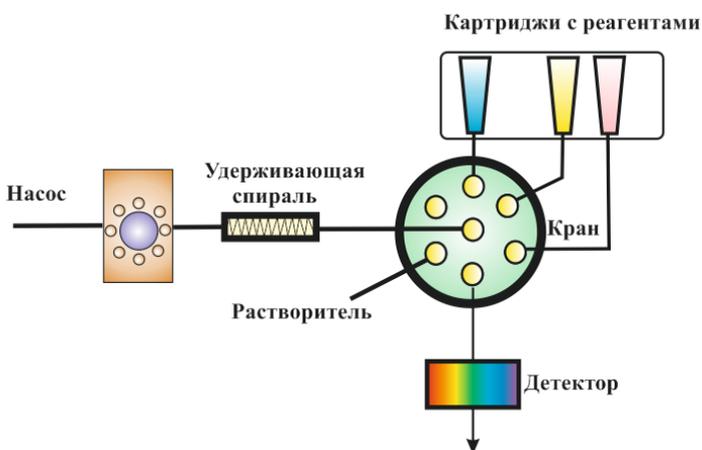


Рис. 25. Схема ZF, используемая для приготовления растворов реагентов.

Предложен вариант использования ZF в потоке модифицированных частиц. В этом случае (рис. 26), в удерживающую петлю вводятся порции пробы (*Bacillus globii*) (5 нл) и суспензии модифицированных частиц (праймер) (22 нл). Зоны перемещаются в термостатируемый реактор, где растворы последовательно выдерживаются по следующей программе:

5 минут при 96 °С

5 минут при 56 °С

Далее добавляют порцию препарата пероксидазы хрена (60 нл), термостатируют при комнатной температуре 10 минут и измеряют аналитический сигнал в проточном флуориметрическом детекторе.

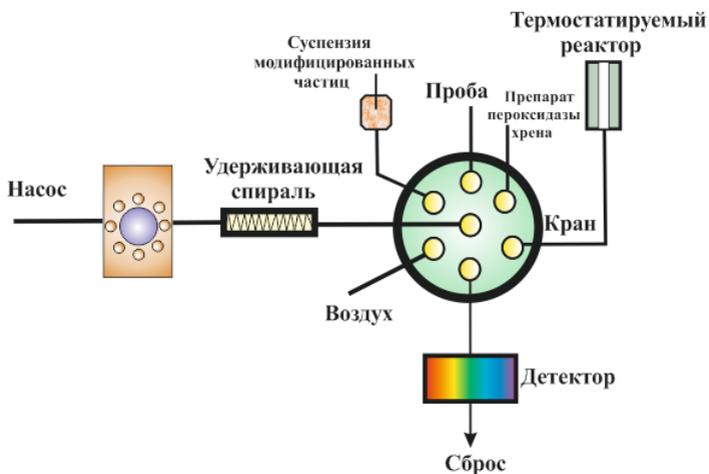


Рис. 26. Схема ZF в потоке модифицированных частиц.

Метод ZF по сравнению не только с ПИА, но и с SIA позволил снизить расход реагентов. Кроме того, удалось устранить дисперсию пробы в процессе ее транспортирования по каналу ZF системы.

## 7. Проточно-порционный и последовательный инжекционный анализ со смесительной камерой

В полной мере условия образования аналитических форм в равновесных условиях реализованы в проточно-порционном анализе (FB). В предложенной для его осуществления гидравлической схеме смесительная камера объединена с кюветой детектора соответствующего типа. Порции пробы и растворов реагентов последовательно отбираются с помощью реверсивного насоса (рис. 27) в удерживающую спираль через многоходовой кран. Далее они перекачиваются в СК, снабженную вкладышем магнитной мешалки. С её помощью в СК происходит перемешивание растворов, после чего выдерживается пауза для завершения аналитической реакции и осуществляется измерение аналитического сигнала.

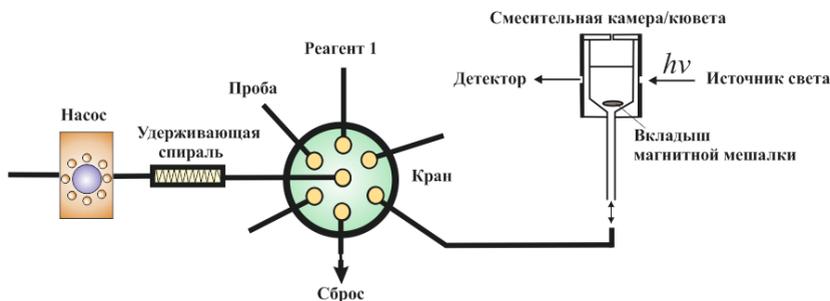


Рис. 27. Схема FB с фотометрическим детектированием.

В тоже время предложенная авторами конструкция гидравлической схемы FB имеет определенные ограничения при выполнении анализов. Включение в схему магнитной мешалки усложняет конструкцию проточного анализатора. Совмещение смесительной камеры с кюветой детектора ограничивает возможности варьирования объема пробы и использования в одном проточном анализаторе нескольких типов детекторов. В частности, в приведенном на рис. 27 примере смесительная камера в FB совмещается с фотометрической

куветой. При автоматизации методик фотометрического анализа в подобной конструкции появляются ограничения по возможности увеличения длины оптического пути при измерении аналитического сигнала. В ФВ она обычно не превышает 10 мм, что связано с ограничениями допустимого объема смесительной камеры. Этот фактор в свою очередь может приводить к снижению чувствительности по сравнению с автоматизируемыми стационарными аналогами методик анализа. К числу достоинств ФВ, связанных с широкими возможностями коммутации потоков с помощью многоходового крана, можно отнести возможность использования метода добавок вместо построения градуировочных кривых, что существенно при анализе проб с существенным самопоглощением в области длин волн, соответствующих поглощению аналитической формы.

Метод стандартных добавок был реализован в ФВ при автоматизации методики атомно-абсорбционного определения железа в автомобильных топливах. В разработанной схеме ФВ (рис. 28) смесительная камера коммутируется с горелкой пламенного атомно-абсорбционного спектрометра (ААС) посредством автоматического клапана. В соответствии с этой методикой в СК смешиваются аликвоты пробы, стандартного спиртового раствора ионов железа (III) и деионизованной воды, после чего смешанный раствор из СК через клапан направляется в горелку пламенного ААС. Вводимое в пробу количество добавки аналита регулируется соотношением отбираемых в СК объемов стандартного раствора аналита и растворителя.

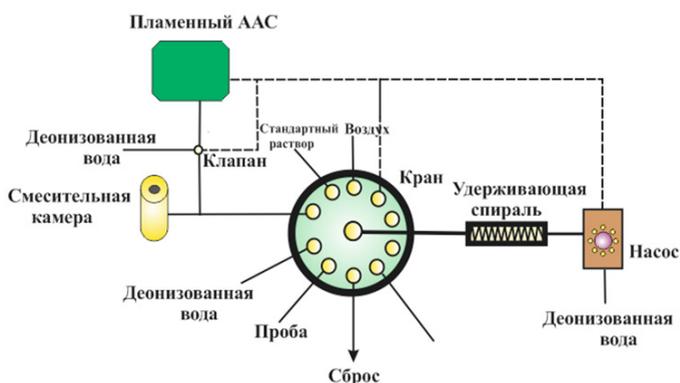


Рис. 28. Схема ФВ для определения железа в автомобильных топливах.

Гидравлическая схема последовательного инъекционного анализа со смесительной камерой (SIA MC) отличается от FB условиями формирования зоны пробы, поступающей в кювету детектора для измерения аналитического сигнала. Смешение образца с растворами реагентов осуществляется так же в СК (рис. 29), но после этого раствор аналитической формы инжектируется в поток носителя и в нем направляется через реакционную спираль в проточный детектор. Эта схема наиболее близка к SIA, но устраняет проблему, связанную с неэффективным смешением зоны пробы и растворов реагентов, характерной для SIA. Однако при доставке к детектору аликвоты смешанного раствора пробы и реагентов в потоке носителя происходит дисперсия его зоны, подобная дисперсии зоны пробы в традиционной схеме SIA.



Рис. 29. Схема SIA MC.

## 8. Циклический инъекционный анализ

Метод циклического инъекционного анализа (ЦИА) был предложен на кафедре аналитической химии СПбГУ. Концепция ЦИА предполагает строгое воспроизведение всех стадий анализа, характерных для стационарных методик: отбор порции пробы; пробоподготовку, включающую при необходимости концентрирование аналитов или их конверсию в удобные для определения химические формы; абсорбцию аналитов в раствор оптимального состава при анализе газов, растворение при анализе твердофазных проб; добавление к раствору пробы растворов реагентов; перемешивание растворов потоком газа до установления равновесия в системе; термостатирование (при необходимости); паузу для достижения максимального значения аналитического сигнала (при необходимости) и измерение аналитического сигнала.

Схема анализа в условиях ЦИА включает три основных цикла: во-первых, измерение аналитических сигналов, соответствующих содержанию аналитов в стандартных растворах (цикл градуировки анализатора); во-вторых, измерение аналитического сигнала, соответствующего содержанию аналита в пробе анализируемой среды (цикл анализа пробы); в-третьих, измерение аналитического сигнала при отсутствии аналита в растворе (цикл измерения фонового сигнала). Помимо этих основных циклов в схему анализа включается дополнительный цикл промывки коммуникаций гидравлических трасс (цикл промывки), который может совмещаться с циклом измерения фонового сигнала. При этом каждый из циклов может многократно повторяться в зависимости от особенностей автоматизируемой методики и требований к погрешности результатов анализа. При этом порядок циклов в достаточной степени произволен и может изменяться по желанию оператора.

В простейшем случае методик, не требующих использования специальных устройств концентрирования или конверсии аналитов, унифицированная аэрогидравлическая схема ЦИА (рис. 30 А) включает: многоходовой кран-переключатель, реверсивный перистальти-

ческий насос, (термостатируемую) реакционную (РЕ) и вспомогательную (ВЕ) емкости, проточный детектор соответствующего типа и аспиратор.

Необходимость введения в ЦИА понятия «аэрогидравлическая схема» связана с одной стороны с однотипностью схем анализа жидких и газообразных сред, а с другой—с включением в эту схему специальной газовой линии, предназначенной помимо ввода газообразных проб для подачи инертного по отношению к компонентам пробы и применяемым реагентам газа, обеспечивающего перемешивание жидких проб и растворов реагентов, а в случае твердофазных проб, перемешивание последних в среде растворителя.

Для случая автоматизации методик анализа, включающих специальные устройства для предварительного концентрирования аналитов или для их конверсии в другие, более удобные для определения формы, предложена вторая унифицированная аэрогидравлическая схема ЦИА (рис. 30 Б). В этой схеме все подобные устройства объединены под собирательным понятием «вспомогательные устройства пробоподготовки» (ВУП).

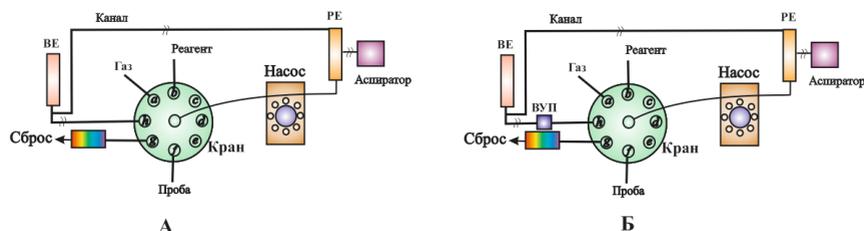


Рис. 30. Схемы ЦИА: без сложной пробоподготовки (А) и с пробоподготовкой, включающей ВУП (Б).

В качестве ВУП в ЦИА могут применяться устройства для конверсии аналитов в другие, более удобные для определения формы, устройства для выделения и концентрирования и т.п. Примером автоматизированной методики с конверсией аналита является методика одновременного определения в водных средах нитрит- и нитрат-ионов после восстановления последних до нитрит-ионов на кадмиевом редуторе. При этом для определения нитритов используется широко известная реакция образования окрашенного азосоединения с реактивом Грисса.

Для реализации методики с двумя последовательно осуществляемыми реакциями образования аналитических форм, одна из которых дополнительно включает реакцию конверсии аналита в реакционноспособную форму, установлен следующий порядок стадий. В РЕ сначала подаются порции раствора реактива Грисса, корректирующего раствора, обеспечивающего создание условий, необходимых для протекания фотометрической реакции и дистиллированной воды. Перемешивание растворов в РЕ осуществляется потоком азота, а смешанный раствор направляется в проточный детектор, где происходит измерение фонового сигнала при остановке потока. Далее в РЕ подаются порции раствора реактива Грисса, корректирующего раствора, пробы и поток азота, где при этом происходит образование раствора аналитической формы нитрит-ионов. Аналитический сигнал, пропорциональный концентрации нитрит-ионов, при этом регистрируется проточным детектором.

В следующем цикле анализа в РЕ подаются порции пробы, корректирующего раствора, обеспечивающего в смеси с пробой среду, необходимую для восстановления на кадмиевом редуторе нитратов до нитритов, и поток азота; после чего смешанный раствор направляется через кадмиевый редутор (ВУП) во вспомогательную емкость. Из вспомогательной емкости раствор, содержащий исходные и вновь образовавшиеся нитрит-ионы при восстановлении нитрат-ионов на кадмиевом редуторе, возвращается в РЕ, где происходит его смешение с соответствующими реагентами. После реверса насоса смешанный раствор направляется в фотометрическую кювету и производится определение суммарного содержания в пробе нитрат- и нитрит-ионов. По разности значений молярных концентраций нитрит-ионов, найденных в двух последних циклах, рассчитывается концентрация нитрат-ионов.

Схема ЦИА позволяет устранить дисперсию пробы и оптимизировать условия образования аналитических форм, благодаря чему удается сохранить чувствительность автоматизируемых статических методик. Кроме того, в ЦИА удается обеспечить унификацию гидравлических схем, что исключает необходимость их перекомпоновки при переходе от одной методики анализа к другой. Более того, ЦИА позволяет проводить комплексную автоматизацию методик анализа жидких, газообразных и легкорастворимых твердофазных образцов. К числу недостатков ЦИА относится относительно низкая производительность по сравнению с неравновесными проточными методами.

## 9. Многокомпонентный проточный анализ

На сегодняшний день в области развития проточных методов проявилась тенденция создания схем анализа, обеспечивающих определение нескольких аналитов из одной пробы. Производительность подобных систем в несколько раз выше однокомпонентных аналогов, поскольку появляется возможность более рационально выстроить порядок операций, избегая временных остановок в работе анализатора, обусловленных такими причинами как перестройка гидравлических схем проточных анализаторов от определения одного аналита к другому. Кроме того, при использовании подобных систем появилась возможность свести к минимуму число рутинных операций, предшествующих анализу. Более того, одновременное определение двух и более аналитов параллельно способствует более экономному расходованию проб анализируемых образцов, а в некоторых случаях и реактивов.

Для реализации многокомпонентного проточного анализа предложено использовать хемометрические и дифференциально-кинетические подходы, а также проточные мультикоммутационные, мультидетекторные и «сэндвич» системы, функционирующие на принципах ПИА и SIA, мультинасосного проточного (MPFS) и мультишприцевого проточно-инжекционного (MSFIA) анализа. Для проведения многокомпонентного проточного анализа предложено использовать коммутацию типичных элементов проточных анализаторов: кранов-переключателей, перистальтических/шприцевых насосов, детекторов разного типа. Такие системы характеризуются более высокой производительностью по сравнению с проточными методами, на принципах которых они основаны.

В простейшем случае мультикоммутационная проточная система на принципах ПИА основана на применении нескольких двухходовых кранов-переключателей для инъекции в проточную систему растворов пробы и растворов реагентов (рис. 31). При этом в первом положении кранов производится инъекция пробы и растворов реагентов. Во втором — раствор пробы и реагентов возвращается в ис-

ходную емкость. Расположение и конфигурация всех коммуникаций зависит от конкретно решаемой задачи. Важным аспектом в работе с мультикоммутационным ПИА является необходимость исключения перегрева кранов-переключателей. Если кран-переключатель долго остается включенным, происходит его нагрев, и в результате этого наблюдается деформация тефлоновых каналов, находящихся внутри крана. Эта проблема решается установкой специальных защитных электронных систем.

Явными преимуществами мультикоммутационных систем является высокая производительность анализа, совмещенная со значительным сокращением расхода пробы и реагентов по сравнению с традиционным ПИА. Это реализуется благодаря тому, что растворы, не использованные в цикле анализа, возвращаются в соответствующие исходные резервуары.

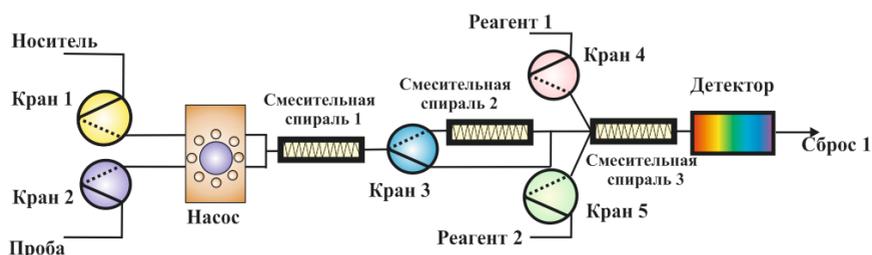


Рис. 31. Схема мультикоммутационного ПИА.

На принципах мультикоммутационного проточного анализа разработана методика одновременного определения цинка, железа, меди, кальция и магния в лекарственных препаратах. Особенностью этой методики является отказ от использования насосов. Потoki создаются за счёт гравитационных сил. Для создания потока за счёт гравитационных сил резервуары с растворами размещают на высоте 1,6 м относительно резервуара для слива. Резервуары с растворами коммутируются по схеме, приведённой на рис. 32. Производительность анализа составила 60 проб/час. В данном случае мультикоммутационная проточная система позволила сократить расход пробы и реагентов в 160 раз по сравнению с традиционной схемой ПИА.

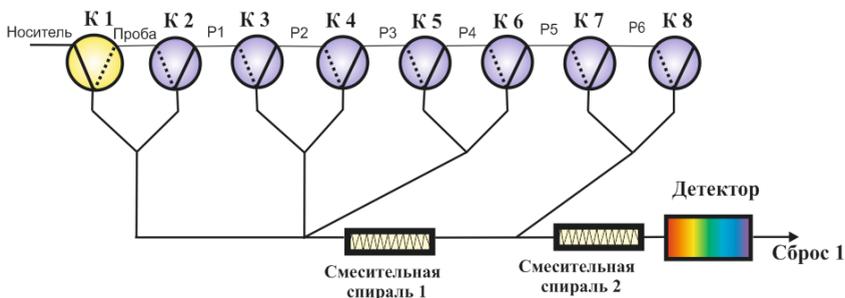


Рис. 32. Схема мультикоммутационного проточного определения цинка, железа, меди, кальция и магния в лекарственных препаратах: К1–К8 — краны-переключатели, Р1–Р6 — растворы реагентов.

Аналогичной по схеме действия мультикоммутационной проточной системе является мультинасосная проточная система. Последняя основана на применении соленоидных поршневых насосов, работающих в импульсном режиме, с помощью которых со строго заданной скоростью вводят точные порции образцов. Типичная схема мультинасосного проточного анализатора представлена на рис. 33.

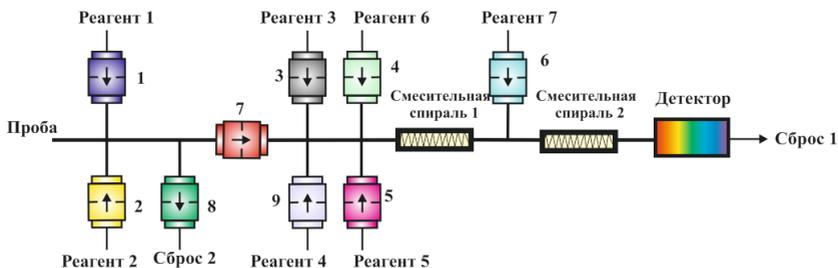


Рис. 33. Схема мультинасосного проточного анализа: 1–9 — соленоидные поршневые насосы.

В этом случае каждый из растворов пробы и реагентов вводятся в проточную систему отдельными поршневыми насосами, которые, кроме введения точным объемом растворов, обеспечивают перемещение пробы по проточной системе. Каждый из насосов задает на-

правление потока жидкости. Количество импульсов определяется необходимым объемом прокачиваемой жидкости. При этом частота импульсов задает скорость потока жидкости. Таким образом, насос выполняет одновременно две функции: задает направление движения жидкости и позволяет регулировать скорости потока растворов. Кроме того, пульсация потока способствует лучшему перемешиванию растворов в системе, благодаря чему удается добиться большей чувствительности анализа.

Одним из основных недостатков данной системы считается невозможность ее использования при анализе объектов, требующих фильтрации пробы или концентрирования аналитов. Примером практического применения мультинасосного проточного анализа является методика определения глюкозы и фруктозы в сиропах, схема которой представлена на рис. 34.

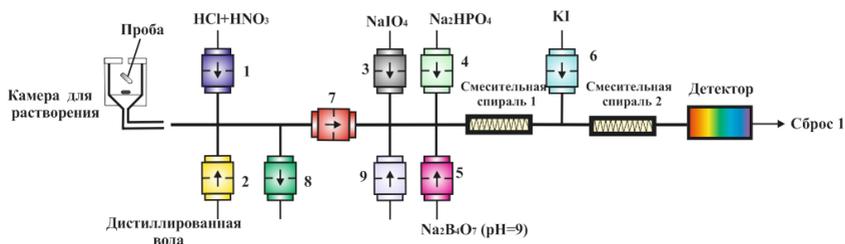


Рис. 34. Схема мультинасосного проточного определения глюкозы и фруктозы в сиропах: 1–9 –насосы.

Согласно представленной схеме, растворы направляются в проточную систему с помощью насосов, которые работают либо одновременно, либо индивидуально. Изначально перед анализом с помощью поочередного действия насосов (2) и (8) для промывки камеры и коммуникаций системы направляется дистиллированная вода. После этого в камеру для растворения помещают пробу и с помощью насоса (1) направляют смесь HCl и HNO<sub>3</sub> для растворения пробы. При этом для повышения эффективности её растворения в камере используют магнитную мешалку.

Раствор из камеры для растворения перемещается в смесительные спирали с помощью одновременной работы насосов (7) и (4). Окисление глюкозы и фруктозы происходит внутри смесительной спирали 1, при смешении растворов NaIO<sub>4</sub> и NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH = 6) Для перемещения

аналитической формы в детектор используют насос (9). В это время оставшийся после окисления глюкозы и фруктозы периодат реагирует с KI, образуя триодидный комплекс, содержание которого определяют фотометрически. Содержание глюкозы и фруктозы определяют, принимая во внимание разные кинетические особенности их окисления. Производительность анализа составляет 25 проб/час.

Идея создания мультинасосных систем нашла свое развитие в мультишприцевом варианте. В этом случае в конструкцию анализатора входит специальная панель, позволяющая управлять одновременно движением 4 шприцов за счет использования привода поршневого насоса. Установка в головке каждого шприца двухходового крана-переключателя позволяет направлять растворы из разных шприцов либо в проточную систему, либо возвращать их в исходные резервуары без смешения с растворами из других каналов. Явными преимуществами последней схемы является возможность работы с агрессивными растворителями и реагентами за счет применения шприцев из инертных материалов. Также появляется возможность работы системы под избыточным давлением, что делает возможным включение в схему анализатора фильтров и сорбционных колонок. Типичная схема мультишприцевого проточного анализатора представлена на рис. 35.

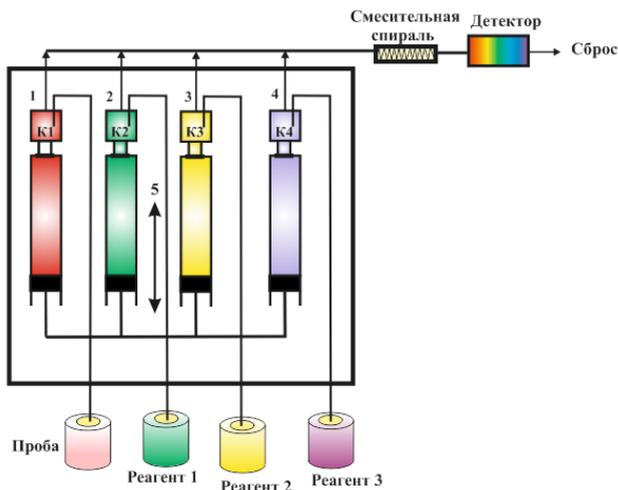


Рис. 35. Схема мультишприцевого проточного анализатора: 1–4—шприцы с растворами реагентов, носителя и анализируемого образца соответственно; 5—привод насоса; K1, K2, K3, K4—двухходовые краны-переключатели.

Интересным и удобным направлением многокомпонентного проточного анализа является так называемый «сэндвич» метод. Основным принципом последнего заключается в том, что пробу размещают между зонами растворов двух реагентов, каждый из которых применяется для определения одного из аналитов. Обычно используют большой объем пробы, для предотвращения перекрытия зон аналитических форм аналитов со стороны каждого из реагентов. Такой прием позволяет определять одновременно два компонента, применяя однократный ввод пробы в проточную систему. Схема последовательного инжекционного анализа в «сэндвич» варианте представлена на рисунке 36.

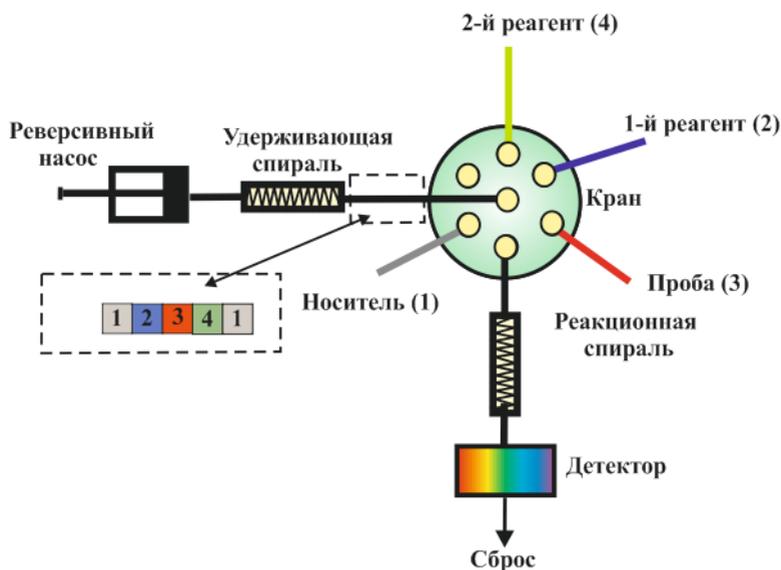


Рис. 36. Схема последовательного инжекционного анализа в варианте «сэндвич» метода.

«Сэндвич» метод используется для одновременного определения общего железа и хрома (VI) в сточных водах. В этом случае проточная система базируется на SIA, а проба для определения аналитов размещается между раствором 1,5-дифенилкарбазида и раствором 1,10-фенантролина с гидроксиламином, последний используется для восстановления ионов железа (III) до железа (II). Образуются два

пика, высота которых пропорциональна содержанию хрома и железа. Определение проводят при одной длине волны — 526 нм. Производительность анализа достигает 60 проб/час. Диапазон определяемых концентраций составляет 0,2–10 мг/л.

В ещё одной разновидности схем многокомпонентного анализа — мультидетекторной проточной системе применяются несколько детекторов с разной чувствительностью к определяемым анализам. Детекторы могут быть расположены как последовательно, так и параллельно. Схема одного из видов мультидетекторного анализатора представлена на рис. 37.

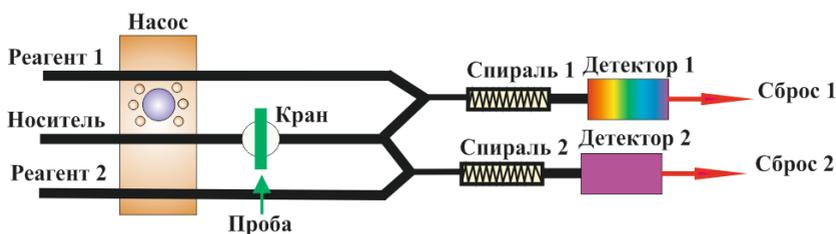


Рис. 37. Схема мультидетекторного проточного анализатора с параллельным расположением детекторов.

С использованием мультидетекторной проточной системы разработана методика совместного определения ионов алюминия (II), цинка (II) и железа (III). Для образования аналитических форм использовался ксиленоловый оранжевый в среде ацетатного буферного раствора (рН=4,5). Определение аналитов основано на последовательном измерении оптической плотности при трех длинах волн (563, 580 и 683 нм). Это возможно при последовательном переключении диодов. Пределы обнаружения для ионов алюминия (III), цинка (II) и железа (III) составили 0,03, 0,01 и 0,02 мг/л соответственно. Производительность анализа составляет 150 проб/час.

Для создания условий проведения нескольких хромогенных реакций в равновесных условиях разработана схема мультикоммутационного циклического инъекционного анализа (МКЦИА) (рис. 38). В предлагаемой схеме один из кранов предназначен для последовательного отбора порций пробы и растворов реагентов, а также коммутации с потоком газовой фазы для перемешивания растворов в РЕ. Второй кран коммутируется с РЕ, количество которых определяется

количеством аналитов и соответственно числом необходимых для их определения спектрофотометрических реакций. В свою очередь число РЕ ограничено количеством каналов используемого крана. В качестве РЕ используют трубки с воронкообразным входом с нижней стороны, изготовленные из стекла. С целью предотвращения смешения зон аналитических форм при их последовательном перемещении из РЕ в детектор, эти зоны сегментируются пузырьками газа, которые вводятся в систему по линии подачи воздуха для перемешивания растворов в РЕ.

Схема МКЦИА была успешно применена для определения ионов никеля (II), меди (II) и цинка (II) в водных пробах. На первом этапе аликвотные порции пробы с помощью реверсивного насоса 1 и крана 1 направляли в каждую из реакционных емкостей (рис. 38). Далее, в термостатируемую РЕ (1) (35 °С) подавали порцию раствора диметилглиоксима (b) и атмосферный воздух (f) в течение 30 с для перемешивания растворов, после чего гомогенный раствор термостатировался в РЕ (5) в течение 240 с до завершения реакции образования диметилглиоксимата никеля.

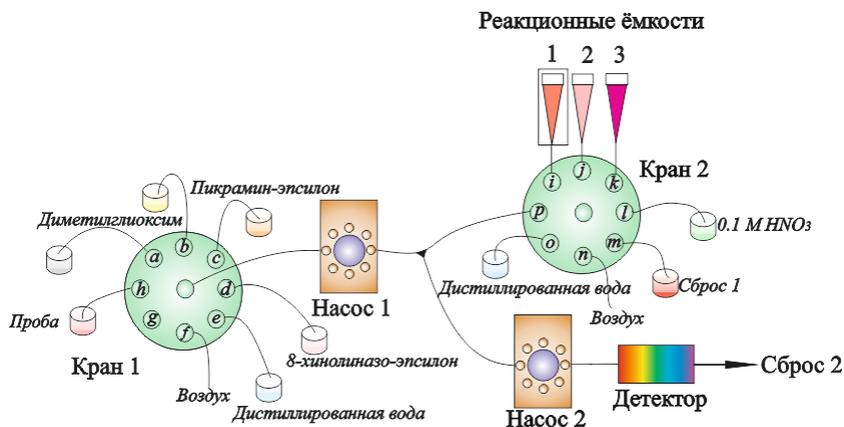


Рис. 38. Схема МКЦИА определения ионов никеля (II), меди (II) и цинка (II).

На третьем этапе в РЕ (2) подавали порцию раствора пикрамина-эпсилон (c) и атмосферный воздух (f) в течение 30 с. При этом в ней происходило образование комплекса ионов меди (II) с пикрамин-эпсилон.

На четвертом этапе в РЕ (3) подавали раствор 8-хинолиназо-эпсилон (d) и атмосферный воздух (f) в течение 30 с, в результате чего в ней происходило образование комплексов ионов цинка (II) с 8-хинолиназо-эпсилон.

На заключительном этапе с помощью насоса 2 последовательно отбирались и направлялись в детектор раствор комплексов из РЕ (1), РЕ (2) и РЕ (3). После каждого заполнения кюветы детектора растворами аналитических форм аналитов кюветы промывались дистиллированной водой (o). Измерение оптической плотности растворов аналитических форм никеля (II), меди (II) и цинка (II) производилось при длинах волн 465, 550 и 560 нм соответственно в режиме остановленного потока. На заключительном этапе вся система промывалась дистиллированной водой (e). Производительность анализа составляет 4 пробы в час.

## 10. Микрофлюидные устройства на принципах проточных методов

Общим трендом в аналитической химии является миниатюризация химического анализа. При этом преследуются цели минимизации трудовых затрат на выполнение анализа, сокращение расходов пробы, реагентов и образующихся отходов. Одним из решений проблемы является миниатюризация анализа на принципах проточных методов. В настоящее время общепризнано, что проточные методы анализа за счет миниатюризации аналитических процессов во многом способствуют развитию «зеленой аналитической химии».

Современные технологии позволяют осуществлять миниатюризацию проточного анализа с помощью микрофлюидных устройств, на которых удастся разместить краны и микронасосы, нагревательные устройства и различные детекторы. Разработаны микрофлюидные устройства на принципах проточно-инжекционного анализа (рис. 39). Для смешивания растворов пробы и реагентов и проведения реакций в потоке носителя используются микрофлюидные чипы с «Y»-образной топологией микроканалов (рис. 40). Для уменьшения габаритных размеров микрочипа микроканалы изготавливают в виде меандра или спирали. Эти устройства обеспечивают максимальную производительность анализа, но не являются универсальными. Необходимо разрабатывать индивидуальную топологию микрофлюидного устройства для каждой конкретной автоматизируемой методики.

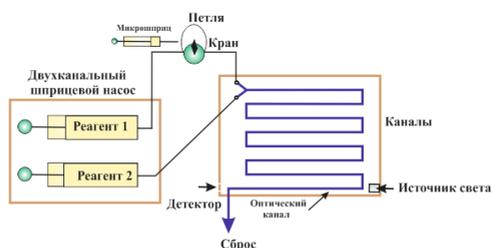


Рис. 39. Схема ПИА с применением микрофлюидного устройства.

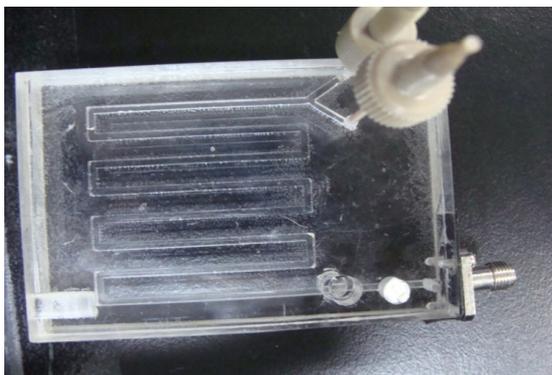


Рис. 40. Микрофлюидный чип с «Y»-образной топологией микроканалов.

Для минимизации расходов пробы и растворов реагентов в SIA Ружичкой в дополнение к общей схеме SIA был предложен её вариант — «Lab-on-valve» (LOV) (рис. 41), который предполагает образование аналитической формы и её детектирование непосредственно в каналах многоходового крана-переключателя.

Проба, раствор реагентов и носитель с помощью насоса последовательно отбираются через кран в удерживающую спираль (рис. 41), где происходит смешивание растворов и образование аналитической формы. Далее раствор аналитической формы транспортируется в канал крана, где в режиме остановленного потока измеряется аналитический сигнал.

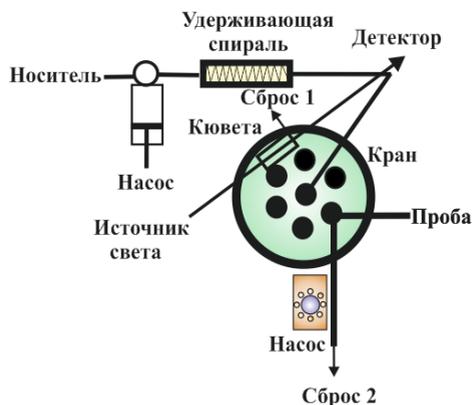


Рис. 41. Схема SIA «Lab-on-valve».

Операции отбора пробы, её смешения с растворами реагентов, остановки потока и детектирования аналитического сигнала могут быть выполнены в системе каналов крана (рис. 42) в любой желаемой последовательности.

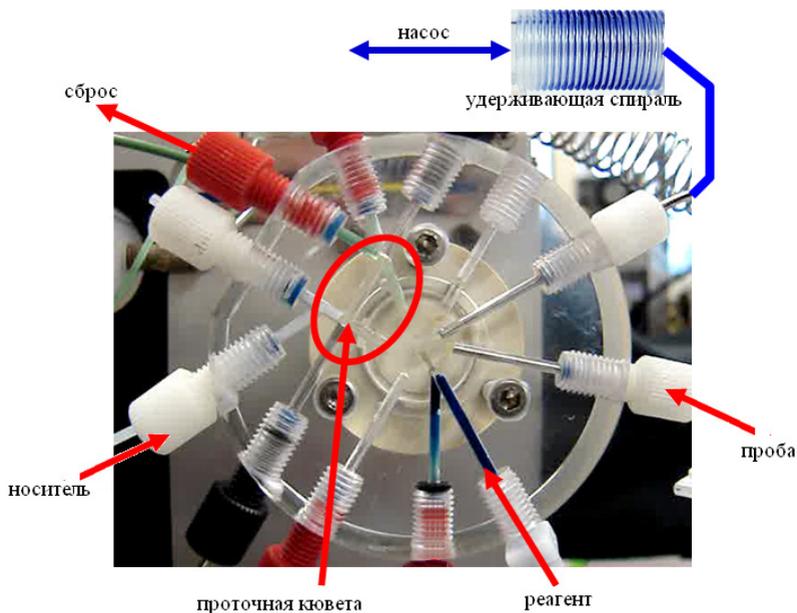


Рис. 42. Кран для реализации режима «Lab-on-valve».

По мнению автора метода, схема SIA в режиме «Lab-on-valve» обладает следующими преимуществами:

для проведения анализа используются минимальные количества пробы и растворов реагентов, образуется минимальное количество отходов, что является важным критерием для большого числа биологических анализов, когда доступны очень малые количества пробы или реагентов;

параметры системы (объемы пробы и растворов реагентов, скорость потока, время анализа) могут быть изменены в управляющей компьютерной программе без изменения конструкции и размеров проточной системы;

возможность остановки потока позволяет оптимизировать условия анализа по времени образования аналитической формы;

ранее разработанные методики последовательного инъекционного анализа могут быть легко адаптированы к условиям LOV.

Схема LOV наиболее привлекательна при автоматизации методик анализа объектов, ограниченных по объёму, например биологических сред и методик, предполагающих использование дорогостоящих реагентов. Например, при определении ртути методом «холодного пара» требуется применение дорогостоящего боргидрида натрия. Авторам работы удалось сократить расход раствора боргидрида натрия до 100 мкл, при этом достигнут предел обнаружения ртути 9 мкг/л при объёме пробы 300 мкл. Согласно схеме LOV, представленной на рис. 43, в удерживающую спираль отбираются порции пробы и раствора реагента (боргидрида натрия), которые вытесняются носителем (раствор соляной кислоты) в сосуд, где происходит генерирование паров ртути. Пары ртути переносятся потоком газовой фазы, подаваемым с помощью насоса, в «измерительный» канал крана, где производится измерение абсорбции.

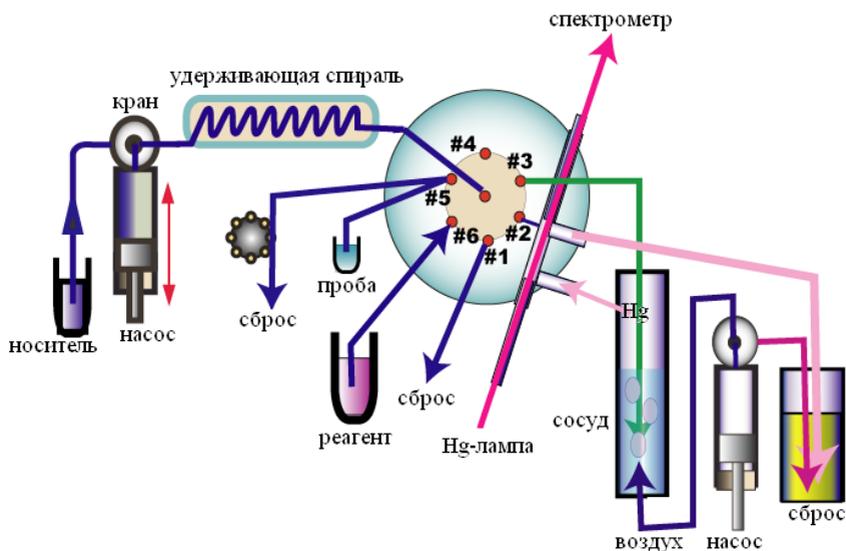


Рис. 43. Схема LOV определения ртути в водных средах.

Недостатками SIA в режиме «Lab-on-valve» являются сложная конструкция и относительно высокая стоимость крана, и возможность загрязнения его микроканалов взвесями и коллоидными суб-

станциями из растворов пробы и реагентов. Поэтому обязательным условием является их фильтрация перед выполнением анализов. Но этот недостаток полностью компенсируется его перечисленными выше достоинствами.

Реализована идея миниатюризации проточных систем на принципах циклического инжекционного анализа. Микрофлюидное устройство на принципах циклического инжекционного анализа ( $\mu$ ЦИА) (рис. 44) включает вертикально расположенную реакционную емкость, которая сообщается с атмосферой с одной стороны и с другими каналами с другой стороны. РЕ предназначена для эффективного перемешивания зон пробы с растворами реагентов с помощью пузырьков газа. Для устранения пузырьков газа при перемещении растворов из РЕ в оптический канал в устройстве изготовлен спиралевидно расположенный канал.

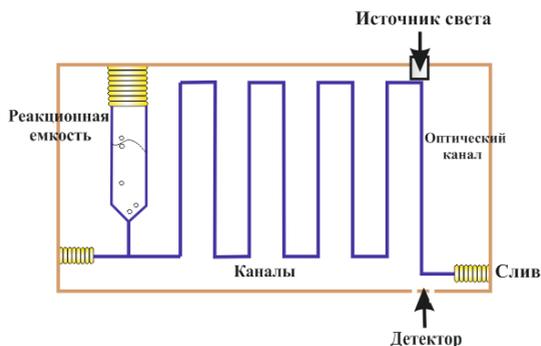


Рис. 44. Микрофлюидное устройство ЦИА.

Схема микрофлюидного устройства ЦИА применялась для определения цистеина в лекарственных препаратах (рис 45.) Изначально с помощью шприцевого насоса и крана проба и растворы ацетатного буфера и 18-молибдофосфорной гетерополикислоты (18-МФА) направляли в удерживающую спираль. Далее смешанный раствор направляли в реакционную емкость микрофлюидного устройства. После чего в реакционную емкость инжестировали поток воздуха со скоростью 0,1 мл/мин для перемешивания раствора. Раствор восстановленной 18-МФА с помощью перистальтического насоса и крана 2 направляли через спиралевидные каналы в оптический канал, где проводили измерение оптической плотности в режи-

ме остановленного потока. На заключительном этапе коммуникации системы промывали дистиллированной водой. Производительность анализа 15 проб в час.

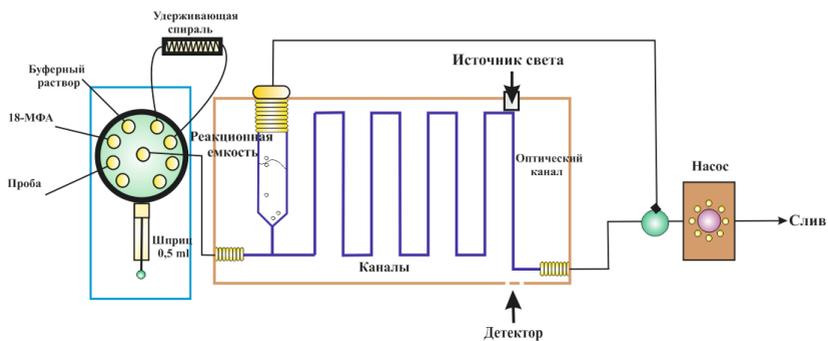


Рис. 45.  $\mu$ ЦИА определение цистеина в лекарственных препаратах.

## 11. Методы разделения и концентрирования, используемые в проточных методах

### 11.1. Мембранные методы

При решении задач перевода аналитов из одной флюидной фазы в другую наиболее предпочтительными для проточных методов явились диффузионные мембранные методы. Помимо межфазного перехода они позволяют решать задачу непрерывного выделения аналитов. В частности, широкое применение нашел метод газовой диффузии.

Газовая диффузия. Этот метод был впервые использован в ПИА для определения растворенных газов и газообразующих веществ. Разработаны системы ПИА и SIA, включающие проточные ячейки для выделения аналитов методом газовой диффузии в сочетании с последующим детектированием любым из применяемых для этого методом. Анализ в таких системах основан на том, что растворенный газ ( $O_2$ ,  $O_3$ ,  $C_{12}$ ) или газ, образующийся в результате химической реакции в потоке ( $SO_2$ ,  $CO_2$ ,  $HCN$ ,  $NH_3$ ,  $H_2S$ ,  $H_2Se$ ,  $AsH_3$ ,  $SbH_3$ ), диффундирует из отдающей фазы в принимающую через гидрофобную газопроницаемую мембрану (полипропилен, политетрафторэтилен) в специальной газодиффузионной ячейке (рис. 46).

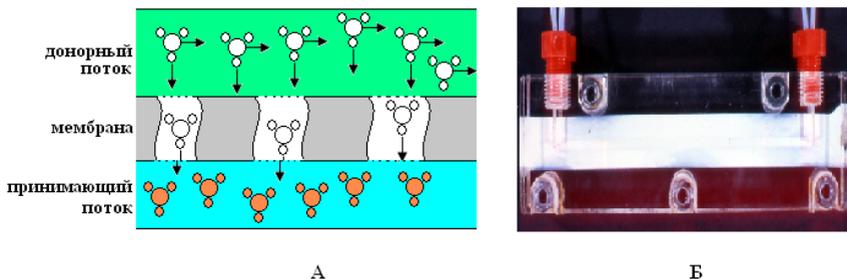


Рис. 46. А: схема газовой диффузии через микропористую мембрану. Б: газодиффузионная ячейка с политетрафторэтиленовой мембраной.

На рис. 47 показана гидравлическая схема проточно-инжекционного определения сульфид-ионов с их предварительным выделением и концентрированием методом газовой диффузии в форме  $H_2S$ . В подкисленный поток носителя инжектируется проба, при этом происходит образование сероводорода, который диффундирует через микропористую мембрану газодиффузионной ячейки в щелочной поглощающий раствор. Далее в нем производится потенциометрическое определение сульфид-ионов. В методике ПИА с газодиффузионным выделением достигнут предел обнаружения сульфид-ионов 0,15 мкг/л.

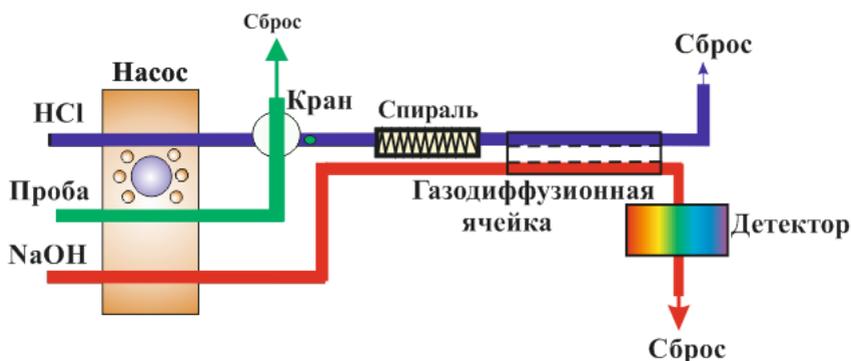


Рис. 47. Схема проточно-инжекционного определения сульфид-ионов с газодиффузионным выделением.

На рис. 48 представлена схема последовательного инжекционного фотометрического определения «активного хлора» в водных средах и в отбеливающих препаратах. Согласно данной схеме, в удерживающую спираль последовательно отбираются порции серной кислоты и пробы, смешанный раствор направляется в газодиффузионную ячейку, где происходит выделение хлора через мембрану в щелочной раствор. Поток поглощающего раствора смешивается с раствором о-дианизидина и после этого производится измерение аналитического сигнала. Разработанная методика позволяет производить определение «активного хлора» в водных средах и в отбеливающих препаратах в диапазонах концентраций 0,6–4,8 мг/л и 0,047–0,188 г/л с производительностью 15 и 30 определений в час соответственно.

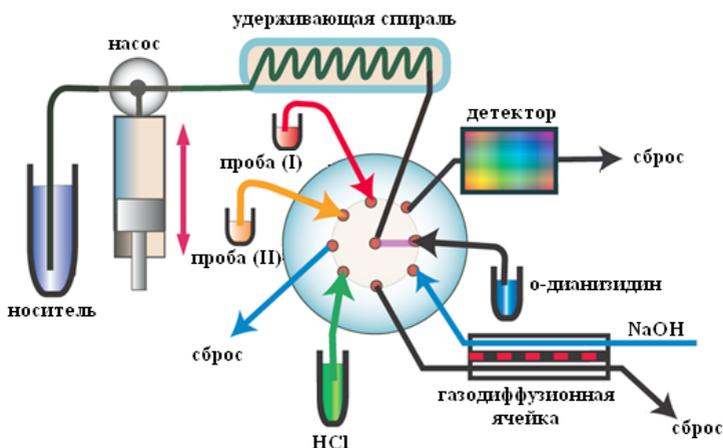


Рис. 48. Схема последовательного инъекционного определения «активного хлора» в водных средах и в отбеливающих препаратах с газодиффузионным выделением.

Для определения микроконцентраций мышьяка нашел применение метод газовой диффузии с химической конверсией аналита в форму гидрида в результате реакции с боргидридом. Образовавшийся гидрид после газодиффузионного выделения из потока исходного раствора в поглощающий раствор детектируются атомно-абсорбционно, хемилюминесценцией или фотометрически.

Метод разделения газовой диффузии позволяет заметно повысить селективность анализа в проточных системах. Это достигается, во-первых, за счет устранения матричных эффектов (мешающего влияния компонентов пробы, не образующих газообразных соединений), а во-вторых, в результате подбора поглощающих растворов, состав которых обеспечивает избирательное поглощение только аналитов.

Диализ. Из диффузионных мембранных методов разделения в проточных методах помимо газовой диффузии достаточно широко применяется и обычный диализ. На практике диализные системы находят применение для отделения аналитов с относительно небольшими молекулярными массами от высокомолекулярных соединений (~10 000 дальтон). Проточные диализаторы (рис. 49) широко используются как в схемах ПИА, так и в схемах SIA для устранения мешающего влияния посторонних веществ, особенно для отделения

макромолекул типа белков при анализе биологических препаратов и пищевых продуктов.

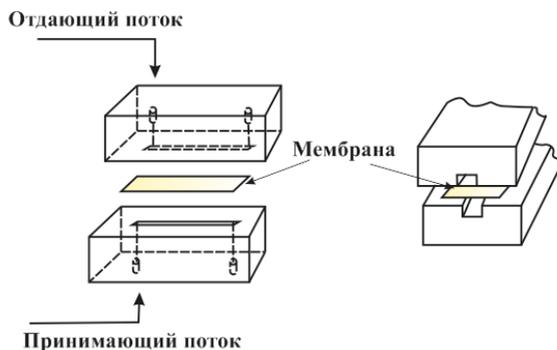


Рис. 49. Проточный диализатор.

Возможности метода иллюстрируются на примере проточно-инжекционного определения винной кислоты в винах. Согласно схеме, представленной на рис. 50, в проточный диализатор по каналу отдающего раствора периодически подаётся проба в потоке дистиллированной воды (а), одновременно в диализатор по другому каналу подаётся принимающий раствор (раствор уксусной кислоты). Принимающий раствор с выделенным анализом объединяется с потоком щелочного раствора ванадата натрия и направляется в смесительную спираль. В последней образуется окрашенный комплекс, оптическая плотность раствора которого измеряется в проточной кювете фотометрического детектора. За счёт использования проточного диализатора удаётся устранить матричные эффекты, которые особенно проявляются при анализе красных вин. Диапазон определяемых концентраций составляет 0,5–4 г/л, производительность 36 определений в час.

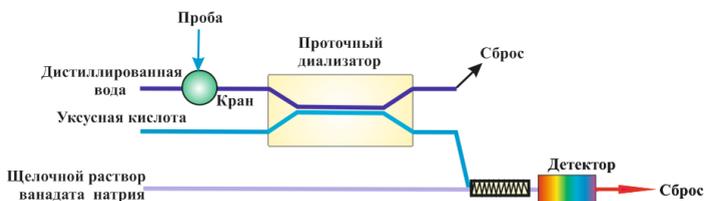


Рис. 50. Схема проточно-инжекционного фотометрического определения винной кислоты в винах.

## 11.2. Жидкостная экстракция

К числу наиболее широко распространенных методов разделения в проточных методах анализа относится жидкостная экстракция. При этом жидкостная экстракция нашла широкое применение не только для предварительного концентрирования аналитов, но и для их выделения веществ в фазовом состоянии, наиболее удобном для последующего определения. Последнее обычно реализуется при автоматизации экстракционно-фотометрических методик. В качестве примера можно привести экстракцию нефтепродуктов гексаном и четыреххлористым углеродом.

Применение экстракции в проточных методах анализа потребовало разработки специальных методических решений для её осуществления в потоке. Широкое распространение в проточных методах нашла экстракция в сегментированных потоках (рис. 51). Сущность подобной схемы экстракции заключается в том, что в поток анализируемого раствора, после корректировки его состава до оптимального для протекания экстракционного процесса, через определенные интервалы времени с помощью сегментатора вводятся порции экстрагента. В результате гомогенный поток водного раствора превращается в двухфазный сегментированный поток, в котором сегменты водного раствора чередуются с сегментами экстрагента, длина которых в капиллярной трубке диаметром около 0,5 мм составляет 1–6 мм. Сегментированный поток проходит экстракционную спираль, в которой интенсифицируется межфазный обмен. Далее он поступает в сепаратор, в котором фазы разделяются, и органическая фаза направляется в проточный детектор. Основным недостатком подобных систем проявляется в невозможности в широких пределах регулировать соотношение объемов фаз, следствием чего являются ограничения по величине достигаемых коэффициентов концентрирования даже при высоких значениях коэффициентов распределения в используемой экстракционной системе.

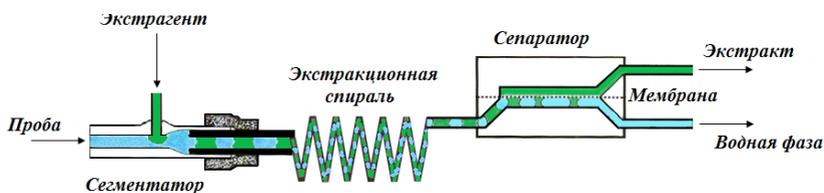


Рис. 51. Проточная система экстракции в сегментированных потоках.

Примером применения экстракции в сегментированных потоках является методика определения нефтепродуктов в водных средах по схеме ПИА (рис. 52). Согласно этой методике в раствор серной кислоты периодически инжектируется порция пробы. Подкисленный раствор пробы сегментируется потоком четырёххлористого углерода, в экстракционной спирали происходит выделение нефтепродуктов в органическую фазу, которая далее отделяется от водной в мембранном сепараторе (мембрана из политетрафторэтилена). Экстракт направляется в проточный ИК-детектор. Автоматизированная методика позволяет определять нефтепродукты в диапазоне концентраций от 5 до 80 мг/л с производительностью 15 определений в час.

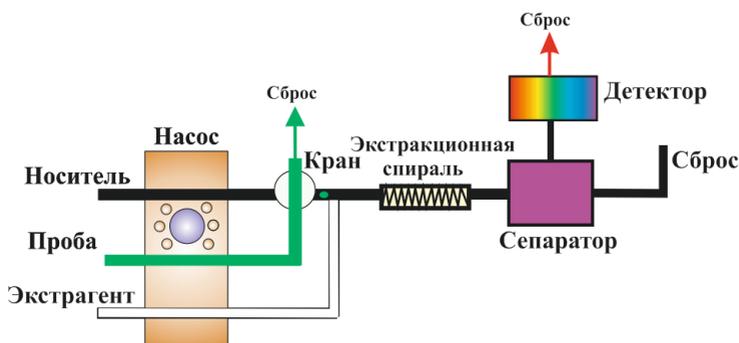


Рис. 52. Схема ПИА определения нефтепродуктов в водных средах.

Типичная ПИ-система с экстракцией в сегментированных потоках характеризуется низким расходом органических экстрагентов (~0,5 мл), пробы (20–200 мкл) и высокой производительностью (45–120 проб в час).

Кроме экстракторов в сегментированных потоках разработана автоматическая система для проведения жидкостной экстракции в потоке без сегментирования и разделения фаз. Согласно данной схеме (рис. 53), проточный детектор располагается непосредственно в петле крана. На первом этапе петля полностью заполняется органической фазой, после чего кран переключается и в петлю подаётся проба в потоке носителя, при этом поток водной фазы останавливается перед детектором. Далее водная и органическая фаза направляются в обратном направлении. Процесс повторяется столько раз, сколько необходимо, чтобы достичь необходимого выделения аналита в орга-

численную фазу. Данная система была использована для определения АПАВ в водных средах по реакции образования ионных ассоциатов с метиленовым синим в диапазоне концентраций аналита от 0,1 до 4 мг/л с производительностью 50 определений в час.

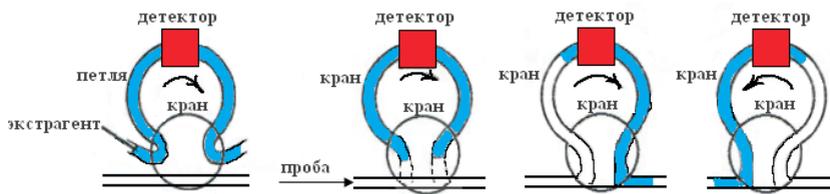


Рис. 53. Проточная система экстракции в петле крана.

Третьим вариантом экстракции в проточных системах явилось экстракционно-хроматографическое выделение с последующим элюированием стационарной органической фазы применяемым экстрагентом и разделением образовавшегося двухфазного потока в фазовом сепараторе (хроматомембранной ячейке). В этом случае проба анализируемого раствора пропускается через экстракционно-хроматографическую колонку, в которой применяемый экстрагент служит стационарной фазой (рис. 54). В качестве носителя органической фазы обычно применяют пористый политетрафторэтилен, который обеспечивает хорошую проницаемость колонок для водной фазы при небольших давлениях, характерных для ПИ-систем. Кроме того, химическая инертность политетрафторэтилена обеспечивает полноту элюирования стационарной фазы при пропускании через колонку соответствующего экстрагента. При пропускании через колонку экстрагента одновременно происходит элюирование выделенной аналитической формы непосредственно в фазе экстрагента и регенерация колонки. Вытесненная из колонки одновременно с экстрагентом водная фаза отделяется от него в мембранном сепараторе, после чего органическая фаза следует в проточный детектор.

Эта схема экстракции была использована для автоматизированного фотометрического определения «фенольного индекса» в природных водах в присутствии гуминовых кислот по реакции фенолов с 4-аминоантипирином. Диапазон определяемых концентраций фенолов составил от 1 до 10 мкг/л с производительностью 15 проб в час. На одно определение требуется 16 мл пробы и 1,4 мл экстрагента.

В случае экстракции в экстракционно-хроматографической колонке по сравнению с экстракцией в сегментированных потоках процесс концентрирования более эффективный, позволяющий существенно повысить чувствительность анализа, т.к. в этом случае величина коэффициентов концентрирования достигает величины коэффициента распределения в применяемой экстракционной системе.

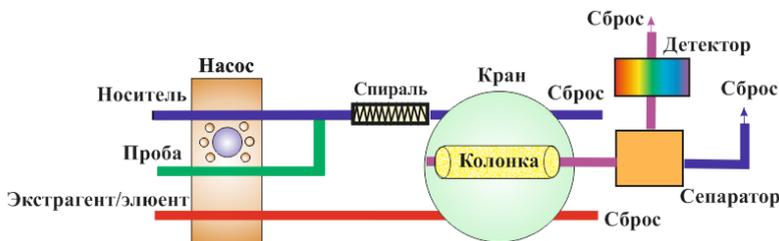


Рис. 54. Проточная система экстракции в экстракционно-хроматографической колонке с последующим элюированием стационарной органической фазы и разделением фаз в фазовом сепараторе.

Кроме вышеописанных общих схем экстракции в проточных методах в работе предложена схема SIA с микроэкстракцией в каплю для определения тяжёлых металлов методом ААС с электротермической атомизацией. Согласно схеме SIA (рис. 55), в экстракционной ячейке на конце стеклянного капилляра выдавливается микро-капля экстрагента (диизобутилкетон) (60 мкл), далее в ячейку подаются проба (15 мл) и раствор хелатообразующего реагента. Водная фаза перемещается вдоль капилляра с каплей экстрагента на сброс. После завершения экстракции капля направляется в детектор. Достигнут предел обнаружения ионов кадмия 0,1 мкг/л, производительность — 6 определений в час.

В настоящее время активно исследуются возможности реализации в проточных методах микроэкстракции с диспергированием экстрагента. Сущность метода заключается в диспергировании экстрагента в исходной пробе воды за счет инъекции в пробу раствора экстрагента в среде диспергатора, который неограниченно смешивающегося как с экстрагентом, так и с водной фазой. Обычно в качестве диспергатора используют полярные растворители: метанол, этанол, ацетон, ацетонитрил.

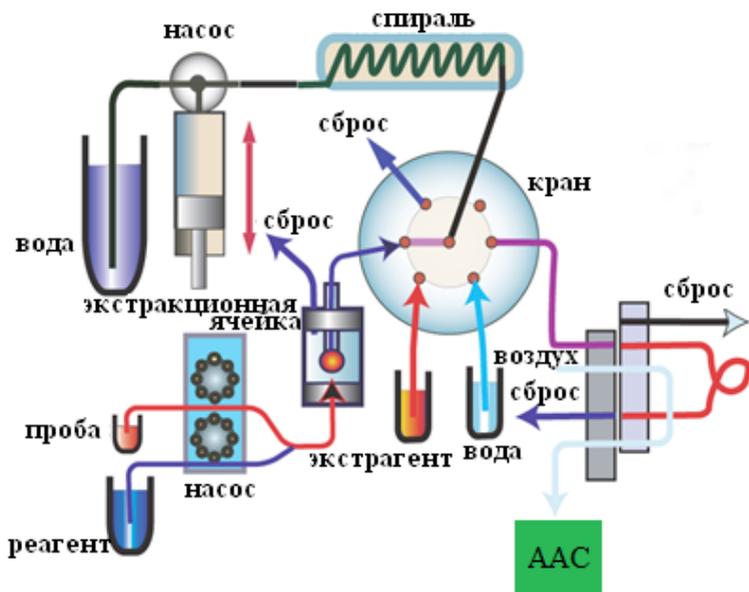


Рис. 55. Схема SIA с микроэкстракцией.

Образование эмульсии экстрагента в фазе анализируемого раствора с субмикронными размерами частиц экстрагента приводит к резкому увеличению поверхности массообмена, что обеспечивает резкое увеличение скорости установления равновесия в системе.

К диспергатору и экстрагенту предъявляют ряд требований. Во-первых, плотность экстрагента должна максимально отличаться от плотности воды для обеспечения последующей агрегации частиц экстрагента в водной фазе. Во-вторых, экстрагент должен быть слабо растворим в воде и обеспечивать высокие значения коэффициента распределения аналита. В качестве экстрагентов обычно используют хлороформ, четыреххлористый углерод, хлорбензол, дисульфид углерода и другие растворители, имеющие большую плотность, чем вода.

По сравнению с классической жидкостной экстракцией предложенная схема осуществления экстракционного процесса позволяет наряду с сокращением времени установления равновесия минимизировать количество экстрагента, что делает методики с применением

жидкостной экстракции с диспергированием экстрагента экологически более безопасными и экспрессными.

Жидкостная экстракция с диспергированием экстрагента применялась для определения антипирина в слюне (рис. 56). На первой стадии анализа проба (супарнатант) и растворы для дериватизации антипирина (серная кислота, нитрит натрия) направляли в реакционную емкость. Далее реакционная смесь перемешивалась потоком азота. На второй стадии анализа в реакционную емкость наплавливалась экстракционная смесь (ацетонитрил — дихлорометан в соотношении 3:2). Для достижения равновесия органическая и водная фазы перемешивались потоком азота в течение 2 мин. Измерение оптической плотности проводили непосредственно в реакционной емкости.

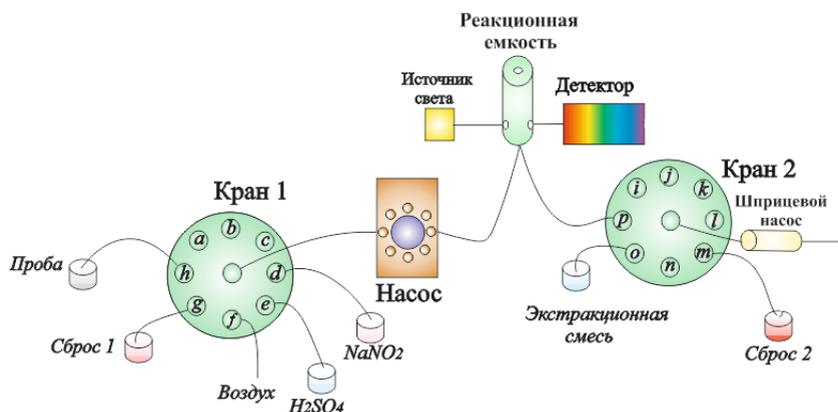


Рис. 56. Схема ЦИА для определения антипирина в слюне с диспергированием экстрагента.

Автоматизация мицеллярной микроэкстракции может быть выполнена на принципах ЦИА. Способ был реализован для определения тетрациклина в биологических жидкостях. На первом этапе с помощью шприцевого насоса в смесительную спираль последовательно отбирались *n*-октиламин и проба (рис. 57), образуя изотропный раствор в ходе продвижения по ней. Полученный раствор направлялся в смесительную камеру, после чего таким же образом в нее вводился раствор хлорида натрия. После перемешивания смеси газовой фазой с помощью перистальтического насоса система становилась двухфазной. Затем происходило фазовое разделение и фазу, обеднен-

ную ПАВ, направляли на сброс. Экстракт разбавляли метанолом при перемешивании газовой фазой и прокачивали в хроматографическую вials для последующего ВЭЖХ-УФ анализа. Степень извлечения тетрациклина составила 90 %.

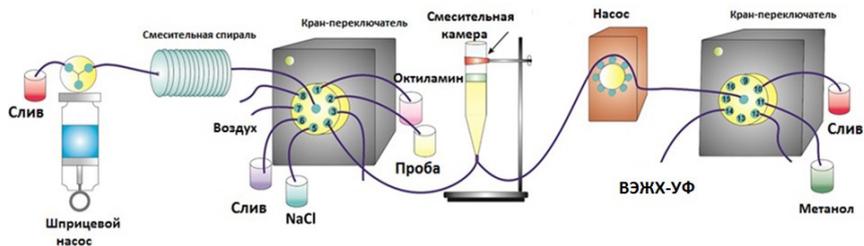


Рис. 57. Схема ЦИА для определения тетрациклина в моче, включающая мицеллярную микроэкстракцию.

### 11.3. Сорбционные методы

С экстракционными методами пробоподготовки в проточных методах анализа активно конкурируют сорбционные. В некоторых случаях они оказываются предпочтительными. К этим случаям, во-первых, относится потребность в предельно высоких коэффициентах концентрирования, как, например, при определении в природных водах бериллия, а во-вторых, когда необходимо исключить проблемы, возникающие при работе с органическими растворителями. Наибольшее распространение в проточных методах анализа нашли сорбенты с хелатообразующими функциональными группами. При необходимости минимизировать время на стадию сорбционного предконцентрирования наиболее эффективными оказываются сорбенты с волокнистой структурой, обеспечивающие максимальную скорость установления сорбционных равновесий. В этом случае целесообразно включение в гидравлическую схему высокоскоростного перистальтического насоса для максимально быстрой фильтрации пробы через колонку с сорбентом по отдельной гидравлической линии. В первом положении крана-переключателя (рис. 58) смешанный поток пробы и буферного раствора фильтруются через колонку при максимально возможной скорости. В это же время элюент смешивается с раствором реагента и проходит через проточный детектор, который фиксирует базовую линию. После переключения крана во

второе положение проба направляется на сброс, а элюент в сорбционную колонку. Элюат на выходе из колонки смешивается с раствором реагента и поступает в детектор, который фиксирует пик аналита на фоне базовой линии, полученной в предыдущем цикле.

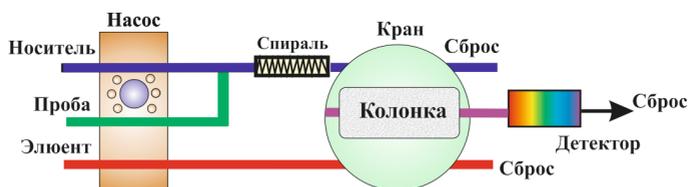


Рис. 58. Схема ПИА с сорбционным выделением аналита.

На рис. 59 представлена схема SIA с сорбционным концентрированием, предназначенная для флуориметрического определения амилорида в моче. Методика предполагает выделение аналита на ионообменной колонке (SPE BAKER WCX) с последующим элюированием смешанным водным раствором азотной кислоты и хлорида калия. Достигнут предел обнаружения 50 мкг/л, время анализа — 8 мин.

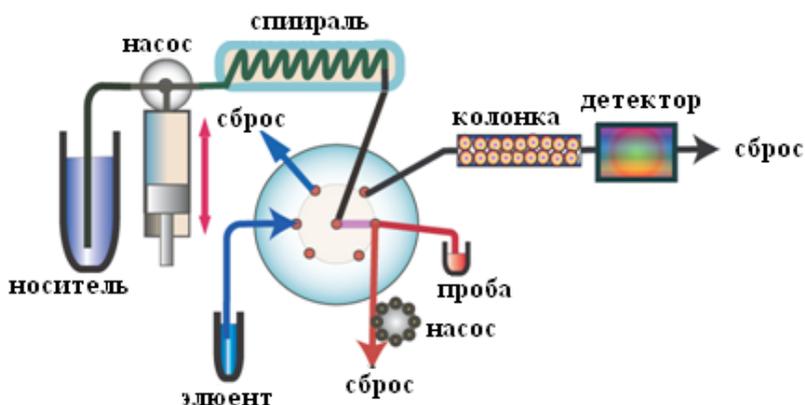


Рис. 59. Схема SIA определения в моче амилорида с сорбционным концентрированием.

Проточная твердофазная микроэкстракция наиболее просто среди всех методов данной группы сочетается с системами ввода пробы

гибридных методов анализа, что послужило активному внедрению такого подхода на практике. Обычно полимерные, кварцевые или стальные капилляры (колонки) покрывают изнутри слоем полимера, заполняют их дисперсным сорбентом/волокнами либо получают внутри монолитный материал *in situ*. Готовый капилляр, как правило, устанавливают вместо петли инжектора, соединенной с многоходовым краном системы ввода пробы жидкостного хроматографа, как показано на рис. 60. После пропускания определенного объема образца посредством шприцевого или перистальтического насоса и сорбции аналитов проводят десорбцию подвижной фазой и направляют элюат в аналитическую колонку для хроматографического анализа. Иногда используют более сложные системы с дополнительными многоходовыми кранами и насосами.



Рис. 60. Общая схема автоматизированной проточной твердофазной микроэкстракции: стадии сорбции (А) и десорбции (Б).

Для автоматизированного проведения сорбционной микроэкстракции на вкладыше магнитной мешалки предложена гидравлическая схема (Рис. 61). Проба и элюент отбираются в удерживающую спираль посредством шприцевого насоса для подачи в смешительную камеру. Тefлоновый диск с сорбционным полимерным покрытием, содержащим октадецильные и сульфоновые группы на поверхности, приводится в движение в магнитном поле за счет установленного внутри металлического стержня. Многократное использование диска (не менее 15 раз) делает систему достаточно автономной. Разработанная схема практически не обеспечивает концентрирования, поэтому элюат упаривают в токе азота и сухой остаток растворяют в метаноле перед анализом. Предложенная схема была применена для ВЭЖХ-УФ определения нестероидных противовоспалительных лекарственных веществ в пробах мочи.

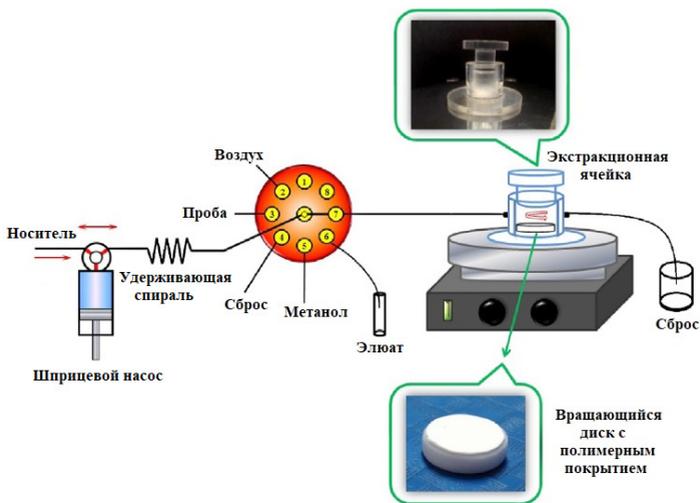


Рис. 61. Гидравлическая схема для автоматизации сорбционной микроэкстракции на вкладыше магнитной мешалки.

Выполнена автоматизация магнитной дисперсионной твердофазной микроэкстракции в кипящем слое на принципах ЦИА для определения фторхинолонов в пищевых продуктах. На предварительном этапе фторхинолоны извлекали из пробы в раствор соляной кислоты в ацетонитриле и помещали навеску ферромагнитных наночастиц в смесительную камеру. Затем, согласно схеме, приведенной на рис. 62, полученный ацетонитрильный экстракт и деионизированную воду посредством перистальтического насоса (1) подавали в смесительную камеру и перемешивали потоком воздуха в течение 10 минут для сорбции аналитов в кипящем слое. Присутствие ацетонитрила способствовало смачиванию частиц водной фазой и обеспечивало более эффективное диспергирование сорбента. После завершения процесса сорбции активировался электромагнит, установленный сбоку смесительной камеры, и наночастицы удерживались на ее стенке, в то время как водная фаза направлялась на сброс. Далее в смесительную камеру подавали раствор гидроксида калия в метаноле в качестве элюента и при перемешивании в течение 5 минут проводили десорбцию, после чего элюат с помощью перистальтического насоса (2) прокачивали в хроматографическую виалу для ВЭЖХ-ФЛ анализа. Степени извлечения находились в промежутке от 75 до 80 %.

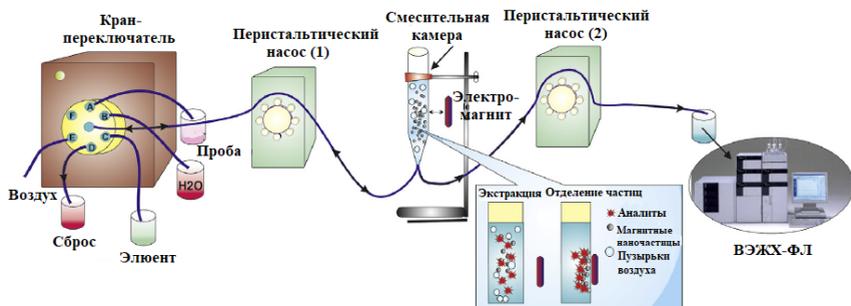


Рис. 62. Гидравлическая схема дисперсионной твердофазной микроэкстракции в условиях циклического инъекционного анализа.

## 11.4. Хроматомембранный массообменный процесс и хроматомембранные методы

Новые возможности для выделения и концентрирования аналитов в проточных методах анализа открыл хроматомембранный массообменный процесс, явившийся универсальным решением для осуществления в потоке любых методов разделения, основанных на межфазном распределении в системах двух любых флюидных фаз: жидкостной экстракции и абсорбции, а также газовой экстракции. Идея хроматомембранного процесса основана на использовании капиллярных эффектов. Массообмен между потоками несмешивающихся жидкостей или жидкости и газа реализуется в пористой среде из гидрофобного бипористого материала (рис. 63). Независимое движение потоков двух фаз осуществляется благодаря тому, что пористая среда имеет поры двух типов (макро- и микро-), существенно различающихся по размерам. Макропоры выбираются такими, чтобы возникающее в них капиллярное давление было пренебрежимо мало и не препятствовало прохождению полярной фазы. Микропоры, наоборот, являются настолько малыми, что возникающее в них капиллярное давление ( $P_k$ ) препятствует проникновению полярной жидкой фазы. В тоже время они могут обеспечивать достаточную проницаемость пористой среды для потока газа или неполярной жидкости. Независимое перемещение двух фаз в пределах массообменного пространства осуществимо при выполнении условий:  $P_4 > P_3$  и  $P_1 < P_2 + P_k$ , где  $P_1$ ,  $P_2$ ,  $P_3$ ,  $P_4$  — давление полярной фазы на входе,

неполярной фазы на выходе, неполярной фазы на входе и полярной фазы на выходе хроматомембранной ячейки соответственно. В качестве гидрофобного пористого материала в хроматомембранной ячейке (ХМЯ) используется ПТФЭ, имеющий максимальные краевые углы смачивания водными растворами. Размеры макропор варьируются в диапазоне 50–500 мкм в зависимости от желаемой проницаемости ячейки для водного раствора. Размеры микропор в случае матриц из ПТФЭ составляют 0,5–10 мкм.

Для ввода в бипористую матрицу потока неполярной жидкой или газовой фаз в ХМЯ применяются микропористые мембраны из политетрафторэтилена (ПТФЭ), размер пор в которых соизмерим с размерами микропор в бипористой матрице, и они являются непроницаемыми для полярной жидкой фазы.

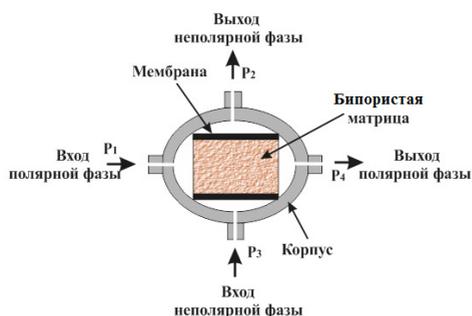


Рис. 63. Схема хроматомембранного массообменного процесса (а) и внешний вид хроматомембранной ячейки (б).

Хроматомембранные методы обладают основными достоинствами хроматографических (высокая эффективность процесса массообмена) и мембранных (непрерывный режим процесса) методов. В отличие от рассмотренных выше частных методических решений для осуществления процессов разделения и концентрирования в проточных методах анализа хроматомембранные методы являются универсальными в решении проблемы высокоэффективного аналитического выделения и концентрирования аналитов из жидкой или газовой фаз в непрерывном режиме.

Хроматомембранные методы нашли применение в проточных методах в вариантах жидкостной и газовой экстракции и жидкост-

ной абсорбции из газовой фазы. В первом случае (рис. 64), в хроматомембранную ячейку одновременно или последовательно подаются потоки водного раствора аналита и экстрагента, при этом происходит выделение аналита в органическую фазу.

Так, при определении фенолов в водных средах в смесительной спирали смешиваются проба с растворами 4-аминоантипирина и окислителя ( $K_2S_2O_8$ ) с образованием окрашенного фенольного комплекса. Раствор аналитической формы поступает в ХМЯ, где происходит её экстракционное выделение в хлороформ. Далее изменяется положение крана (2), и водная фаза идёт на сброс, а в ХМЯ подаётся хлороформ для элюирования экстрагента, направляемого далее в фотометрический детектор. Достигнут предел обнаружения—5 мкг/л.

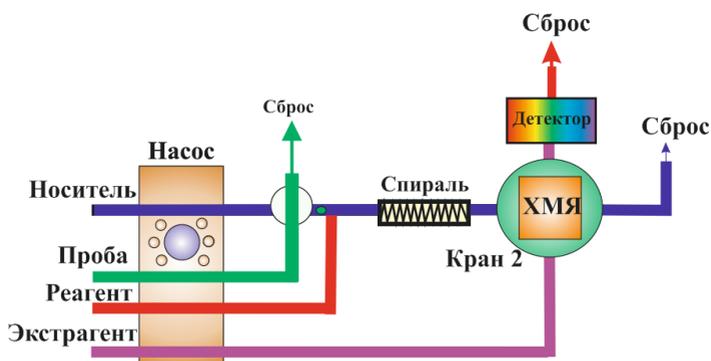


Рис. 64. Проточная система с хроматомембранной жидкостной экстракцией.

Для определения аналитов, образующих летучие соединения предложена схема, включающая последовательные операции хроматомембранной газовой экстракции аналитов и их жидкостно-абсорбционного выделения (например, в другой ХМЯ). Эта схема реализована для проточно-инжекционного определения в водных средах сульфид-ионов (рис. 65). Согласно этой схеме в подкисленный раствор носителя инжектируется проба, содержащая сульфид-ионы. Далее происходит хроматомембранное выделение аналита в форме сероводорода в газовую фазу с последующим хроматомембранным поглощением сероводорода в щелочной раствор. На заключительной стадии осуществляется потенциометрическое детектирование сульфид-ионов в поглотительном щелочном растворе.

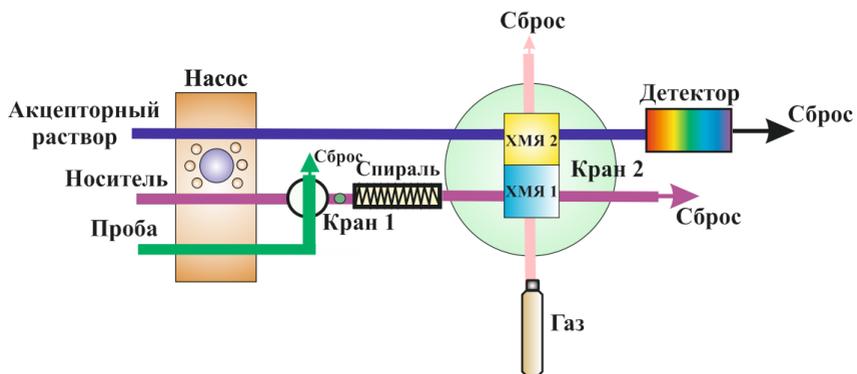


Рис. 65. Проточная система с хроматомембранной газовой экстракцией.

## 12. Классификация проточных методов и сравнение их аналитических возможностей

К настоящему времени для решения проблем автоматизации химического анализа предложено использовать две группы проточных методов анализа, различающихся по условиям образования аналитических форм определяемых веществ.

К первой группе относятся неравновесные методы, в которых проточным детектором аналитический сигнал регистрируются в неравновесных условиях образования регистрируемых аналитических форм. К неравновесным методам относятся НПА, ПИА, SIA и CIA. Все перечисленные варианты неравновесных методов проточного анализа обладают таким неоспоримым достоинством, как высокая производительность, которая может достигать до нескольких сот проб в час, но одновременно имеют один общий недостаток — снижение чувствительности по сравнению с автоматизируемыми статическими аналогами методик анализа. Это снижение является следствием двух факторов. В случае замедленных реакций образования аналитических форм при взаимодействии аналитов с реагентами непрерывный поток раствора-носителя не позволяет оптимизировать процесс по времени их образования. Анализ в режиме остановленного потока только частично решает эту проблему, так как при этом более существенно проявляется второй фактор, приводящий к снижению чувствительности. Этот фактор — дисперсия зон проб в гидравлических трассах.

Учитывая, что при автоматизации методик химического анализа производительность далеко не всегда является основным фактором, в последние годы предложено несколько вариантов проточных методов, в которых отмеченный недостаток неравновесных методов предлагается устранить за счёт создания равновесных условий образования аналитических форм. К равновесным методам относятся ZF, FB и ЦИА. Схемы всех равновесных методов объединяет наличие смесительных камер, в которые последовательно поступают аликво-

ты проб и растворов реагентов, которые тем или иным способом смешиваются и при необходимости выдерживаются в течение определенного времени для создания равновесных условий образования аналитических форм. Также преимуществом равновесных методов является возможность оптимизации расходов реагентов за счёт строго дозированной подачи их растворов в смесительную камеру. Однако, наряду с отмеченными преимуществами все равновесные методы существенно уступают неравновесным по производительности. Как правило, производительность равновесных методов не превышает 10 проб в час.

### **13. Области практического применения методов проточного анализа**

Наиболее распространенными объектами проточного анализа являются объекты окружающей среды и фармацевтической промышленности, такие как лекарственное сырье, готовые лекарственные препараты и технические среды биохимических производств. Аналитические характеристики автоматизированных методик анализа важнейших объектов представлены в табл. 1. Упомянутые в таблице методики являются во многом случайной выборкой, учитывая огромное число публикаций в области проточного анализа, но они позволяют выделить основные области применения проточных методов и оценить их аналитические возможности.

Анализ объектов окружающей среды. Ключевым фактором широкого применения проточных методов для автоматизации анализа объектов окружающей среды является возможность обеспечения оперативного (схема off-line) и непрерывного on-line контроля содержания аналитов в природных и сбросных водах, а также в атмосферном воздухе. Значительно меньше внимания уделяется таким объектам, как почвы, донные отложения и растения. В этих случаях, как правило, речь идет о проточных методах анализа off-line водных вытяжек из соответствующих объектов, полученных в независимом эксперименте. Наиболее часто применяемыми методами детектирования в проточном анализе объектов окружающей среды являются оптические (спектрофотометрия, хемилюминесценция, флуориметрия), позволяющие обеспечить простое, надежное, чувствительное, а в некоторых случаях и достаточно селективное определение аналитов. Также широко используются электрохимические методы детектирования: потенциометрия и вольтамперометрия, основными преимуществами которых являются простота и портативность детекторов, и обеспечение возможности выполнения анализов в широком диапазоне концентраций. Однако они уступают оптическим методам по показателям воспроизводимости, а в ряде случаев и по чувствительности.

При необходимости определения низких концентраций аналитов применяются проточные методы с атомно-абсорбционным и масс-спектрометрическим детектированием. Последние два способа детектирования позволяют, кроме высокой чувствительности, обеспечить многокомпонентность проточного анализа. В подобных гибридных схемах проточные методы обеспечивают автоматизацию стадии пробоподготовки, включая концентрирование аналитов. В наиболее сложных случаях сочетания проточного анализа, хроматографических методов и капиллярного электрофореза, применяются традиционные для этих методов детекторы.

При проточном анализе воздуха рассматривается несколько вариантов пробоотбора. Первый вариант сводится к автономному отбору пробы (активный или пассивный пробоотбор) с последующим проточным анализом концентрата. Подобные схемы анализа не вписываются в системы непрерывного контроля on-line в режиме реального времени. В этом случае более привлекателен непрерывный пробоотбор на принципах жидкостно-абсорбционного выделения аналитов непосредственно в схемах проточного анализа. Такой подход легко реализуется с применением на стадии пробоотбора и пробоподготовки хроматомембранных методов и барботажа в условиях ЦИА. В последнем случае процесс жидкостно-абсорбционного выделения газообразных аналитов производится непосредственно в реакционную емкость проточного анализатора и сопровождается их переводом в аналитические формы, легко определяемые в водных растворах.

В целом, развитие проточных методов анализа объектов окружающей среды направлено на разработку автоматизированных методик анализа off-line. Значительно реже речь идет о создании автоматизированных систем аналитического контроля в реальном масштабе времени. Одним из примеров подобных разработок являются системы для оснащения патрульных экологических судов, предназначенных для мониторинга открытых акваторий с параллельным определением более десятка показателей качества воды, таких как ионы аммония, нитрат-, нитрит- и фосфат-ионы, нефтепродукты, фенолы и некоторые тяжелые металлы в режиме движения судна по обследуемой акватории.

Анализ лекарственного сырья и фармацевтической продукции. Возможности автоматизации методик анализа лекарственного сырья и фармацевтической продукции в условиях проточного анализа под-

тверждены на большом количестве объектов. Отдельные примеры подобных разработок обобщены в табл. 1. Как и в случае анализа объектов окружающей среды в проточном анализе фармацевтических объектов предпочтение отдается фотометрическим методам детектирования. Кроме того, широкое применение находят сенсоры различного типа. В частности, применение электрохимических сенсоров в ряде случаев обеспечивает не только большую селективность определения, но и большую чувствительность. Для детектирования лекарственных препаратов используются и массивы неселективных сенсоров в варианте электронного языка. Хемометрические подходы реализуются и в случае многокомпонентного проточного анализа. Максимальную селективность обеспечивает применение иммуносенсоров. Главным достоинством сенсорного детектирования является возможность выполнения анализов как *in vivo*, так и *in vitro*. Широкое распространение в проточном анализе фармообъектов нашло и флуориметрическое детектирование в хемилюминесцентном, биолюминесцентном и электрохемилюминесцентном вариантах, позволяющие наряду с высокой селективностью достигать рекордно низких пределов обнаружения аналитов до 10–16 моль.л-1.

Также для повышения селективности предложены методические решения, основанные на сочетании проточных методов с методами высокоэффективной жидкостной и газовой хроматографии, капиллярного электрофореза. Достигаемая при этом высокая селективность позволяет определять близкие по свойствам соединения, в том числе изомеры. Гибридные методы также характеризуются высокой чувствительностью, использованием небольших объемов проб и растворов реагентов. Однако эти гибридные методы обладают рядом недостатков, таких как длительность анализа, сложность в автоматизации и эксплуатации в сочетании с высокой стоимостью оборудования. К числу недостатков гибридных методов относится необходимость предварительного отделения некоторых вспомогательных веществ, входящих в состав объектов фармацевтического анализа, в частности суспендирующих агентов, быстро выводящих из строя хроматографические и электрофоретические колонки.

Как и в случае анализа объектов окружающей среды основные усилия в области фармацевтического анализа направлены на автоматизацию методик анализа *off-line*. Но в то же время технологические биохимические процессы явились первыми объектами приложения

методологии непрерывного автоматизированного контроля on-line за их протеканием на принципах проточных методов. Эти системы предназначены для наблюдения за биотехнологическими процессами изменения содержания в контролируемой среде целевых компонентов: глюкозы, аминокислот, антибиотиков и др.

Таблица 1

Характеристики методик проточного анализа различных объектов

Объект анализа	Аналит	Метод	Производительность, проб в час	Диапазон определяемых концентраций
Вода	Cl <sup>-</sup>	ПИА ФД	100	5,6·10 <sup>-5</sup> -2,2·10 <sup>-4</sup> моль/л
	Фенолы	ПИА ХЛД	11	5·10 <sup>-6</sup> -1·10 <sup>-3</sup> г/л
	Анионные поверхностно-активные вещества	ПИА ФД	8	6-15 мкг/л
	Co <sup>2+</sup>	ПИА ХЛ	7	2-10 нг/л
	Cu <sup>2+</sup>	ПИА ААС	90	5-50 мкг/л
	Sn <sup>2+</sup>	ПИА ААС	30	0,03-0,5 мкг/л
	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	СИА ФД	72	10-1000 мг/л
	Γ	СИА ФД	15	0,002-0,5 мг/л
	Hg	СИА ФД	25	0,9-30 мкг/л
	Cr (VI)	СИА ФД	80	0,2-2 мг/л
	Pb <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup>	СИА ФД	20	1-70; 1-70; 75-200 мкг/л
	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , SiO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	ЦИА ФД	10	1-90; 0,5-25 мг/л
	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	ЦИА ФД	4	2-15; 5-50 мг/л
As	ЦИА ФД	2	10-30 мг/л	
Воздух	SO <sub>2</sub>	ПИА ФД	12	1-5 мг/л
	NO <sub>2</sub>	СИА ХЛД	80	1·10 <sup>-7</sup> -1·10 <sup>-4</sup> моль/л
	Формальдегид	СИА ФД	27	1-20 мг/л
	Меркаптаны	ЦИА ФД	-	0,5-7,5 мкг/м <sup>3</sup>
	Сероводород	ЦИА ПМД	10	0,1-8 мкг/м <sup>3</sup>
	Ni <sup>2+</sup>	ЦИА ФД	3	1,5-38 мкг/м <sup>3</sup>

Почва	$\text{NH}_4^+$ , $\text{NO}_2^-$ , $\text{NO}_3^-$	ПИА ФД	18	0,05–1,4; 0,02–1,6; 0,02–1,6 мг/л
	$\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Mg}^{2+}$	ПИА ФД	160	1–80; 1–150 мг/л
	N	ПИА ПМД	80	$2 \cdot 10^{-4}$ – $2 \cdot 10^{-2}$ моль/л
	Fe	ПИА ААС	300	0,36–5 мг/л
	$\text{Cl}^-$	ПИА ПМД	100	1–100 мкг/л
Лекар- ственное расти- тельное сырье	Антрахиноны	ЦИА ФД	6	>0,2 г/л
	Протокатеховый альдегид, $\beta$ -(3,4-дигидроксифенил) молочная кислота, протокатеховая кислота	ПИА КЭ	15	6,2–400; 12,5–800; 12,5–800 мг/л
Лекар- ственные препара- ты	Диазепам	ПИА ФД	100	2–110 мг/л
	Венлафаксин	ПИА ФД	30	30–150 мг/л
	Метилдопа, допамин, адреналин	ПИА ФД	180	1–50; 2–50; 5–70 мг/л
	Леводопа	ПИА ФД	130	$(4,1–20,3) \cdot 10^{-4}$ моль/л
	Бенсеразид	ПИА ФД	21	$(0,85–4,25) \cdot 10^{-4}$ моль/л
	Парацетамол	ПИА АМД	-	$2,5 \cdot 10^{-6}$ – $1,10^{-3}$ моль/л
	Мелатонин	ПИА АМД	135	$1 \cdot 10^{-8}$ – $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л
	Бромазепам	СИА ФД	20	0,1–8 г/л
	Триметоприм	СИА ХЛД	120	0,5–100 мг/л
	Каптоприл	СИА ПМД	140	$2 \cdot 10^{-4}$ – $1,4 \cdot 10^{-3}$ моль/л
	Диклофенак	СИА ПМД	32	$1 \cdot 10^{-6}$ – $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л
	Прометазин	СИА ФД	12	0,5–8 мг/л
	Аскорбиновая кислота	ЦИА ФД	12	0,05–0,3 г/л

ААС— атомно-абсорбционная спектрометрия; АМД— амперометрическое детектирование; ПМД— потенциометрическое детектирование; КЭ— капиллярный электрофорез; ФД— фотометрическое детектирование; ХЛД— хемилюминесцентное детектирование

## Рекомендуемая литература

Проточный химический анализ. Под ред. Золотова Ю. А.. М.: Наука, 2014. 430 с.

Аналитическая химия. Методы разделения веществ и гибридные методы анализа. Под ред. Москвина Л. Н. СПб.: Академия, 2008. Т. 2. 304 с.

Золотов Ю. А.. О химическом анализе и о том, что вокруг него. М.: Наука, 2004. 477 с.

Мак-Махон Дж. Аналитические приборы. С-ПБ.: Профессия, 2009. 352 с.

Кристиан Г. Аналитическая химия. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2009. Т. 2. 504 с.

Cerda A., Cerda V.. An introduction to flow analysis. Palma de Mallorca, 2009. 218 p.

Москвин А. Л., Москвин Л. Н. Успехи химии. 2005. Т. 2. С. 155.

Булатов А. В., Москвин А. Л., Москвин Л. Н., Вах К. С., Фалькова М. Т., Шишов А. Ю. Научное приборостроение. 2015. Т. 25. С. 3.

## Русско-английский словарь терминов

Зонный флюидный анализ	Zone fluidics in flow analysis (ZF)
Мультикоммутационный циклический инъекционный анализ	Multicommutative stepwise injection analysis (MCSWIA)
Мультинасосный проточный анализ	Multipumping flow system (MPFS)
Мультишприцевой проточно-инжекционный анализ	Multisyringe flow injection analysis (MSFIA)
Перекрестный инъекционный анализ	Cross injection analysis (CIA)
Последовательный инъекционный анализ	Sequential injection analysis (SIA)
Проточно-инжекционный анализ	Flow injection analysis (FIA)
Проточно-порционный анализ	Flow batch system (FB)
Проточный анализ в потоке модифицированных частиц	Bead injection analysis (BIA)
Циклический инъекционный анализ	Stepwise injection analysis (SWIA)

## Некоторые полезные интернет-сайты

<http://www.flowinjectiontutorial.com>—5-е издание учебника по проточно-инжекционному анализу, подготовленное авторами ПИА Ружичкой и Хансенom.

<http://www.flowinjection.com>—домашняя страница компании FIAlab, ведущего разработчика и производителя ПИА и SIA анализаторов.

<http://www.globalfia.com>—домашняя страница компании Global FIA, разработчика и производителя ZF анализаторов.

<http://aitech.ac.jp/~jafia/english>—сайт японской ассоциации по проточно-инжекционному анализу (JAFIA).

<http://bulatovlab.ru>—сайт группы проточных методов анализа Санкт-Петербургского государственного университета.

Учебное издание

**Булатов** Андрей Васильевич  
**Вах** Кристина Степановна  
**Тимофеева** Ирина Игоревна  
**Шишов** Андрей Юрьевич  
**Почивалов** Алексей Сергеевич  
**Москвин** Леонид Николаевич

# ПРОТОЧНЫЙ ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Учебное пособие

Компьютерная верстка: *Булатов А. В., Мещерин В. В.*

Подписано в печать 31.03.2022. Формат  $60 \times 84 \frac{1}{16}$ .  
Бумага офсетная. Гарнитура Times. Печать цифровая.  
Усл. печ. л. 5,11. Тираж 100 экз. Заказ № 1685.

---

Отпечатано в Издательстве ВВМ.  
198095, Санкт-Петербург, ул. Швецова, 41.