

3. Theoretischer Teil

3.1 Fließ-Injektions-Analyse

In diesem Abschnitt wird erst über die Fließ-Injektions-Analyse (FIA) und anschließend kurz über die Sequentielle-Injektions-Analyse (SIA), eine Weiterentwicklung der FIA, berichtet. Literatur mit einer Übersicht über Anwendungen der FIA in der Probenvorbereitung und Trennung [6] sowie Monographien [7-10] über den Entwicklungsstand der FIA befinden sich im Literaturverzeichnis.

3.1.1 Grundlagen

Die ersten Fließ-Injektions-Methoden wurden von J. Ruzicka und E.H. Hansen [11] sowie Mitarbeitern [12] Mitte der 70er Jahre beschrieben. Sie stellen eine Weiterentwicklung von Verfahren mit segmentiertem Fluß dar, die zuvor als Routinebestimmungen in der Blut- und Urinanalyse eingesetzt wurden. Die Proben wurden mittels einer fließenden wäßrigen Lösung, die eng aufeinanderfolgende Luftblasen enthielt, zu einem Detektor transportiert. Die Luftblasen dienten dazu, eine übermäßige Dispersion der Probe zu verhindern, die Vermischung von Probe und Reagenzien zu unterstützen sowie die Wände des Schlauches zu säubern, um eine Kreuzkontamination zwischen aufeinanderfolgenden Proben zu vermeiden. Festgestellt wurde, daß diese Ziele durch ein richtig konstruiertes System auch ohne Luftblasen zu realisieren war.

Bei der Fließ-Injektions-Analyse (FIA) wird die Probelösung in einen kontinuierlich fließenden Trägerstrom injiziert und zu einem Detektor transportiert. Auf dem Weg zum Detektor vermischt sich die Probezone mit der umgebenden Trägerlösung (Dispersion), die ein Reagenz enthalten kann. Zusätzlich können weitere Reagenzien kontinuierlich zugesetzt werden. Das entstehende Reaktionsprodukt wird in der Durchflußzelle eines Detektors gemessen (siehe Abb. 3-1).

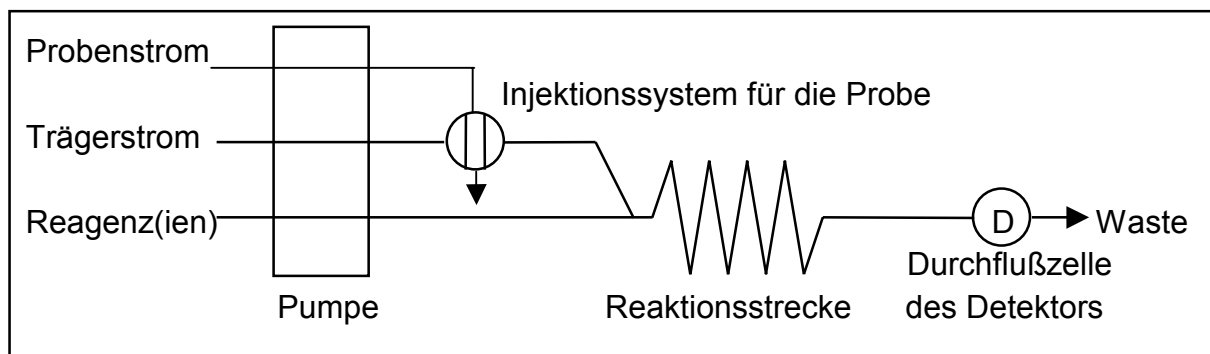


Abb. 3-1. Einfaches FIA-System (Abb. nach [13])

Auf dem Weg zum Detektor verteilt sich der Inhalt der Probezone. Durch geeignete Wahl des injizierten Probevolumens, der Fließgeschwindigkeit, der Reaktionsstreckenlänge und des Innendurchmessers der verwendeten Schläuche läßt sich diese Dispersion (Verteilung oder Verdünnung) der Probezone kontrollieren und den jeweiligen Anforderungen anpassen. Dabei ist für die kontrollierte Probendispersion und die präzisen zeitlichen Abläufe weder die vollständige physikalische Durchmischung von Probe und Reagenz noch das Erreichen eines Gleichgewichtszustandes der chemischen Reaktion nötig.

Im Anschluß an die Injektion einer Probe wird zunächst ein konstantes Detektorsignal aufgezeichnet (Reagenzblindwert, Basislinie). Nach einer bestimmten Zeit wird das analytische Signal in Form eines Peaks mit einem exakt definierten Konzentrations-Zeitprofil erhalten, das dynamische und kinetische Informationen beinhaltet. Anschließend wird die Probe aus dem System gespült (Rückkehr zur Basislinie).

In der Routineanalytik hat die FIA im wesentlichen folgende Vorteile:

- 1) Hohe Analysengeschwindigkeit und -frequenz,
- 2) Schnelle Ansprechzeiten (häufig weniger als 1 min zwischen Probeninjektion und Detektorantwort),
- 3) Schnelle Anschalt- und Abschaltzeiten (weniger als jeweils 5 min),
- 4) Einfache und vielseitige Ausrüstung (mit Ausnahme des Injektionssystems),
- 5) Geringer Proben- und Reagenzbedarf,
- 6) Flexibilität des Detektionssystems,
- 7) Leichte Umrüstbarkeit auf andere Analyte,
- 8) Hoher Automationsgrad,
- 9) Einfache Probenkonditionierung,
- 10) Jederzeit kalibrierbar.

3.1.2 Kopplung von Separations- und Anreicherungsoperationen mit der Fließ-Injektions-Analyse

Bei der Untersuchung eines Analyten aus einer komplexen Matrix muß in der Regel mindestens eine Trennoperation ausgeführt werden, um ihn störungsfrei bestimmen zu können. Diese Trennoperation kann vor der eigentlichen Bestimmung des Analyten manuell durchgeführt werden. Jedoch lassen sich sowohl komplexe Probenvorbereitungsschritte als auch Trennoperationen in den FIA-Ablauf integrieren. Bei der Integration von Separationstechniken ist weder die Einstellung von Gleichgewichten noch eine Vollständigkeit des Trennprozesses unbedingt erforderlich, da alle Prozesse unter gleichen dynamischen Bedingungen reproduzierbar ablaufen.

Im folgenden wird die Kopplung von FIA mit den wichtigsten Trennungstechniken kurz dargelegt. Weitere Informationen über Separationstechniken in der FIA befinden sich in der Literatur [10,14,15].

1. Dialyse

Unter Dialyse wird die Separation von zwei Komponenten einer flüssigen Probe aufgrund unterschiedlicher Diffusionsgeschwindigkeiten durch eine Membran verstanden. Hierbei sind beide flüssigen Phasen ineinander mischbar.

In der Praxis wird die Dialyse meist zur Abtrennung von anorganischen Ionen oder kleinen organischen Molekülen eingesetzt. Der Übergang der jeweiligen Komponenten durch die Membran ist normalerweise unvollständig. Eine erfolgreiche quantitative Bestimmung erfordert die genaue Kontrolle der Temperatur und der Fließgeschwindigkeit sowohl der Proben als auch der Standards. Nach dem Übergang der jeweiligen Komponenten kann eine chemische Umsetzung zu einem detektierbaren Reaktionsprodukt erfolgen.

Die Effizienz der Abtrennung wird im wesentlichen von der Geometrie der Dialysezelle, den Fließgeschwindigkeiten und den Eigenschaften der Membran bestimmt.

Anwendungsbeispiele der Dialyse sind vornehmlich die Bestimmung anorganischer Ionen in Abwasser, flüssigen Lebensmitteln und biologischen Proben sowie die Eliminierung von Störkomponenten bei enzymatischen Bestimmungen.

2. Gasdiffusion

Bei der Gasdiffusion wird ein gasförmiger Analyt aus einem Donorfluß (Flüssig-Gas-Extraktion) über einen Gasraum in einen matrixfreien Akzeptorstrom (Gas-Flüssig-Extraktion) überführt, der ein Reagens enthält, das die Bestimmung des Analyten erlaubt. Bei fast allen Anwendungen dieser Technik findet der Transport des Analyten über eine hydrophobe mikroporöse Membran statt. Ein Flüssigkeitsaustausch wird durch die Membran verhindert. Da nur vergleichsweise wenige Substanzen bei Raumtemperatur ausreichend flüchtig sind und ionische Substanzen die Membran nicht passieren können, ist die Gasdiffusionstechnik mit einem erheblichen Selektivitätsgewinn verbunden.

Klassische Methoden wie die destillative Abtrennung von Ammoniak oder Cyanwasserstoff bei der Bestimmung von Ammonium und Cyanid in stark belasteten Wässern oder Bodeneluatn können durch die Gasdiffusion in einem Fließsystem elegant ersetzt werden.

3. Ausfällung

On-line Fällungen werden im einfachsten Fall durch Injektion des Probensegments in den kontinuierlich fließenden Trägerstrom durchgeführt, der das Fällungsreagenz beinhaltet. Das in der Reaktionsschleife gebildete Produkt wird an einem on-line Filter zurückgehalten und die Konzentrationsabnahme des Fällungsreagenzes kontinuierlich gemessen. Die Wiederauflösung des Produkts durch nachfolgende Injektion eines geeigneten Reagenzes kann ebenfalls analytisch genutzt werden, wobei gleichzeitig eine Empfindlichkeitssteigerung durch die vorhergegangene Anreicherung erreicht wird. Besonders ausgeprägt beim Einsatz von Fällungsreaktionen in der FIA ist die Möglichkeit, unterschiedliche Fällungs- oder

Wiederauflösungskinetiken von Mischpräzipitaten analytisch zu nutzen, wie beispielsweise bei der Bestimmung von Chlorid neben Iodid mittels Atomabsorptions-Spektrometrie. In diesem Fall werden beide Anionen mit Silbernitrat ausgefällt und anschließend nur Chlorid mit Diammoniumcarbonat in Lösung gebracht [16].

4. Sorption

Zur Separation von Analyt und Matrix der Probelösung durch Sorption oder auch Ionenaustausch wird ein entsprechender Festphasenreaktor in das FIA-System integriert. Es wurden bereits eine Vielzahl solcher Reaktoren entwickelt [10].

Die Ionenaustauscher- oder Sorptionssäulen können zur Abtrennung von Störkomponenten verwendet werden. In den weitaus meisten Fällen werden sie für Anreicherungs-zwecke eingesetzt. Dazu wird ein relativ großes Probenvolumen durch die Säule gepumpt, bevor die angereicherten Spurenkomponenten durch Elution in ein kleines Volumen überführt und dem Detektor zugeführt werden.

Als Säulenmaterial können z.B. chelatbildende Ionenaustauscher, C₁₈-gebundenes Silikagel, Polymer-Lösungen, basische Anionen-Austauscher, saure Kationen-Austauscher, aktiviertes Aluminium oder Wasser-Adsorbentien eingesetzt werden. Eine häufig beschriebene Anwendung dieser Technik ist die Anreicherung von Schwermetallspuren mit anschließender AAS- oder ICP-Bestimmung.

5. Gas-Flüssig-Extraktion

Gasförmige Komponenten werden aus einem definierten Gasstrom in eine Reagenz-lösung abgetrennt und zum Detektor transportiert. Diese Gas-Flüssig-Extraktion erfolgt in einem on-line Separator, einem in das FIA-System eingebauten Manifold.

Eine Anwendung dieser Methode wird ausführlich in dieser Arbeit beschrieben.

6. Flüssig-Flüssig-Extraktion

Bei der Flüssig-Flüssig-Extraktion werden zwei nicht miteinander mischbare Phasen, eine organische und eine wäßrige, in intensiven Kontakt gebracht, wobei an der Phasengrenzfläche ein Stoffaustausch stattfindet. Dabei wird überwiegend ein in wäßriger Probe vorliegender Analyt direkt oder nach einer chemischen Reaktion in eine organische Phase extrahiert. Anschließend werden beide Phasen auf physikalische Weise getrennt.

Die praktische Umsetzung erfolgt durch das Zusammenführen der wäßrigen Probe und des organischen Lösemittels durch einen Phasen-Segmentor. Für die Durchführung existieren bereits zahlreiche Phasen-Segmentoren, wie z.B. der Merging-Schlauch-Segmentor oder der Coaxial-Segmentor [10]. Prinzipiell werden die unmischbaren Phasen als alternierende Segmente zusammengeführt, die gleichbleibende definierte Volumen-Verhältnisse aufweisen müssen.

Danach werden beide Phasen in einer Extraktionseinheit, z.B. einem geknoteten Schlauchsystem (siehe Abb. 3-2), während einer definierten Zeitspanne in Kontakt gebracht.

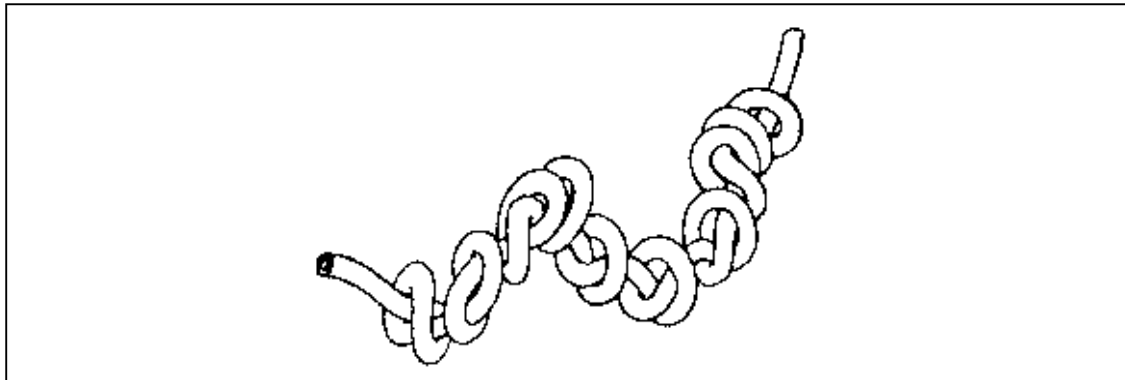


Abb. 3-2. Geknotetes Schlauchsystem als Extraktionseinheit (Abb. nach [10])

Im Anschluß erfolgt mit Hilfe eines Phasen-Separators eine kontinuierliche Trennung der beiden Flüssigkeiten, wobei eine Phase zu dem Durchfluß-Detektor transportiert wird. Auch hier sind bereits einige Vorrichtungen vorhanden, wie z.B. der Gravitations-Phasen-Separator, der Membran-Phasen-Reaktor (Sandwich Typ), der Separationsmembran-Separator oder der Säulen-Phasen-Separator.

Eine Zusammenstellung von Anwendungen von Flüssig-Flüssig-Extraktionen im FIA-System befindet sich in der Literatur [17].

Eine neue Technik, die als Flüssig-Flüssig-, Gas-Flüssig- sowie Flüssig-Gas-Extraktion verwendet und in ein FIA-System integriert werden kann, wird im Abschnitt 3.2 beschrieben.

3.1.3 Sequentielle-Injektions-Analyse

Die Sequentielle-Injektions-Analyse (SIA) entwickelte sich aus der FIA. Sie benötigt ebenfalls eine präzise Proben-Injektion, eine kontrollierte Dispersion während des Transportes der flüssigen Phase und eine reproduzierbare Zeitsteuerung. Die Durchführung erfordert eine Pumpe, die in beiden Richtungen Flüssigkeiten fördern kann, ein Multipositions-Ventil, einen Detektor sowie eine Halte- und Reaktionsschleife (siehe Abb. 3-3). Die Halteschleife ist dazu da, eine Probe- und Reaktionszone herzustellen, ohne daß diese mit der Pumpe in Kontakt tritt.

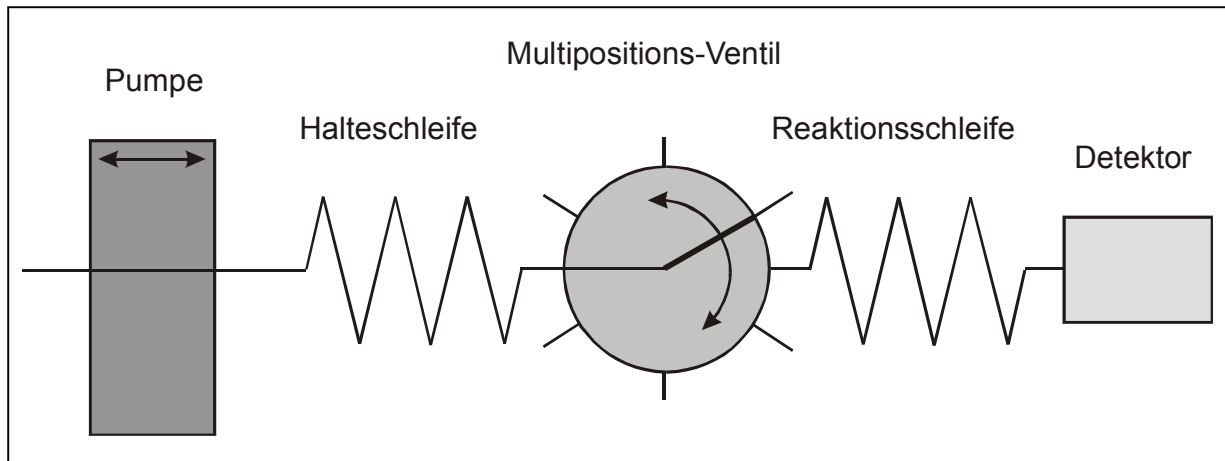


Abb. 3-3. Aufbau eines einfachen sequentiellen Injektions-Systems.

Eine typische Analyse beinhaltet das Ansaugen der Probe aus der ihm zugewiesenen Öffnung des Multipositions-Ventils in die Halteschleife. Anschließend stoppt die Pumpe und das Multipositions-Ventil dreht sich zur Öffnung des Reagenzes. Nun wird das Reagenz, wie zuvor auch die Probe, in die Halteschleife gesogen. Zuletzt dreht sich das Multipositions-Ventil auf die Stellung des Detektors und die Pumpe drückt die Probe-Reagenz-Zone erst durch die Reaktionsschleife und anschließend durch den Detektor. Wie auch bei der FIA dispergieren die Probe und das Reagenz in der Reaktionsschleife und bilden so zwischen den beiden Zonen den zu detektierenden Bereich. Dabei ist die SIA vielseitiger als ihr Vorgänger, da sie gegenüber einem festen Volumen aus der Probeschleife bei der FIA ohne weiteres unterschiedliche Volumina an Probe verwenden kann. Dies setzt eine präzise Zeitsteuerung voraus, um das benötigte Volumen an Probe und Reagenz in der Halteschleife zu sammeln. Außerdem erlaubt die SIA, eine komplexe Chemie durchzuführen, weil die Anzahl der Reagenzien nicht mehr begrenzt auf die Zahl der Kanäle der Pumpe ist. Die SIA hat einige Anforderungen, die die FIA nicht erfüllen braucht: SIA benötigt einen Computer mit speziell angepasster Software und eine präzise Pumpe. Diese Pumpe ist bei der SIA nötig, da man jedes definierte Volumen durch eine genaue Pumpgeschwindigkeit während einer bestimmten Zeit erhält. Dies erlaubt dem Benutzer, die Analyse von einem Computer aus zu optimieren. Dadurch erhält man eine sehr genaue Zeitsteuerung (im Millisekunden Bereich) und ein minimal gehaltenes Volumen an Reagenzien und Probe.

Eine durchgeführte Anwendung dieser SIA im biochemischen Bereich wird im Anhang A kurz beschrieben. Weitere Veröffentlichungen zu diesem Thema [18-27] findet man in dem Abschnitt 7. Literatur.