

8.1

Najważniejsze konfiguracje stosowane w analizie przepływowej

8.1.1

Wprowadzenie

Analiza przepływowa opiera się na koncepcji ciągłego lub dyskretnego wprowadzania próbki badanej do segmentowanego lub niesegmentowanego strumienia nośnika, w którym in-line przeprowadzane są dodatkowe operacje, takie jak oczyszczanie, zateżnianie analitu, czy mieszanie z reagentami w celu uzyskania łatwiej oznaczalnego produktu reakcji [1].

Termin analizy przepływowej wprowadzony został w latach 50. XX wieku przez Skeggsa [2], który zaproponował pionierski system służący do badania zawartości mocznika we krwi, składający się z kilku modułów, umożliwiających wykonywanie różnych operacji fizykochemicznych w sposób zmechanizowany. Gwałtowny wzrost zainteresowania tego typu technikami pojawił się już w połowie ubiegłego wieku, kiedy diagnostyka zaczęła odgrywać coraz większe znaczenie w medycynie. Rosnące zapotrzebowanie na testy laboratoryjne wymusiło rozwój dziedziny w kierunku coraz większej automatyzacji stosowanej aparatury oraz rozwoju technik o wysokiej przepustowości, przy jednoczesnym dążeniu do miniaturyzacji, minimalizacji ilości zużytych odczynników oraz wytwarzanych odpadów, zwłaszcza tych toksycznych [3]. Od czasu zaproponowania pierwszych metod analitycznych wykorzystujących przepływ, opracowano wiele rozwiązań technologicznych jego realizacji, które znalazły szerokie zastosowanie zarówno w praktyce laboratoryjnej, jak i w przemyśle. Główne usprawnienia dotyczyły zastosowania małych objętości próbek (rzędu 20–200 μl), wykorzystanie zminiaturyzowanych detektorów optycznych i elektrochemicznych, czy modułów do analizy rezonansu plazmonów powierzchniowych (SPR) [2].

8.1.2

Konstrukcja układów pomiarowych

Nowoczesne systemy stosowane do wstrzykowej analizy przepływowej składają się zwykle z podstawowych elementów, takich jak:

- wysokiej jakości element generujący przepływ, którym może być jedno- lub wielokanałowa pompa perystaltyczna, pompa strzykawkowa, wyposażona w silnik krokowy bądź mikropompa;
- zawór wstrzykowy do wprowadzania próbki badanej, często połączony z autosamplerem;

- cela pomiarowa z detektorem, który rejestruje pożądane parametry fizyczne, przy czym najczęściej stosuje się detektory wykorzystujące zjawiska optyczne bądź elektrochemiczne;
- pętla reakcyjna lub komora mieszania, czyli elementu, w którym zachodzi mieszanie próbki z reagentami i przebiega reakcja.

Systemy analizy przepływowej charakteryzują się stosunkowo dużą elastycznością w projektowaniu pożądanych konfiguracji podzespołów. Poszczególne elementy są łatwo dostępne i nieskomplikowane w montażu. Prostota konfiguracji sprawia, że w wielu systemach stosowane są dodatkowe, opcjonalne elementy, takie jak termostatowane moduły do ogrzewania próbki w celu przyspieszenia przebiegu reakcji chemicznej, moduły do ekstrakcji i zateżniania próbek, filtry do usuwania cząstek stałych czy np. degazery, służące do usuwania ze strumienia pęcherzyków powietrza, stosowane w analizatorach z segmentacją strumienia.

8.1.3

Tryby pracy

W pomiarach wykonywanych z użyciem automatycznych analizatorów dyskretnych jednorazowe kuwety napełnione reagentami (próbką badaną, wzorcami, odczynnikami, buforami) umieszcza się w statywie urządzenia. Analizator realizuje poszczególne etapy procedury analitycznej, pobierając za pomocą specjalnej igły odpowiednie reagenty z poszczególnych kuwet i dozując je do kuwety z próbką, która po przeprowadzeniu niezbędnych reakcji przemieszczana jest w urządzeniu do detektora. Pozwala to na pewne ograniczenie ilości zużywanych odczynników i generowanych odpadów w porównaniu z wykonywaniem analogicznej analizy przez chemika. W przeciwieństwie do tej metodologii, w analizie z użyciem ciągłego przepływu (*Continuous Flow Analysis*, CFA) próbkę wstrzykuje się do roztworu nośnika, płynącego z dużą szybkością przez przewód o małej średnicy. Po drodze próbka jest mieszana z odpowiednimi odczynnikami, a w wyniku zachodzącej reakcji powstaje produkt, którego zawartość może być zmierzona, dając pośrednio informację o stężeniu analitu w próbce. Analizator przepływowy można sobie więc wyobrazić jako rodzaj „przenośnika taśmowego”, w którym odczynniki są dodawane do próbki wędrującej po „linii produkcyjnej”, skonstruowanej jako ciąg połączonych modułów do sekwencyjnego wykonywania zdefiniowanych w protokole analizy operacji. Dzięki wprowadzeniu ścisłej kontroli stosowanych warunków przepływu stało się możliwe uzyskanie dużej powtarzalności wykonywanych manipulacji. Przy zachowaniu stałości parametrów fizycznych procesu (szybkość przepływu, temperatura, ciśnienie w układzie), pomiary mogą być dokonywane po ściśle określonym czasie od połączenia reagentów, stosując tzw. sygnał