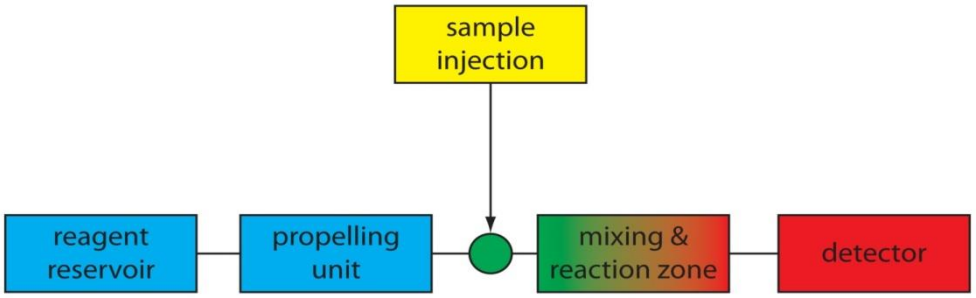
التحليل بالحقن الجرياني Flow injection analysis

النظرية والتطبيق Theory and Practice

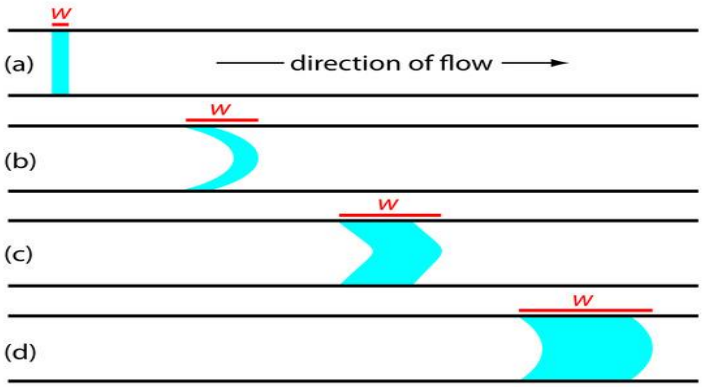
في منتصف السبعينات تم تطوير التحليل بالحقن الجرياني (FIA) كتقنية عالية الكفاءة للتحليلات الآلية للعينات. يسمح التحليل بالحقن الجرياني بالتحليل السريع والمتسلسل لعدد غير محدود من العينات. يعد FIA أحد الأمثلة على محلل التدفق المستمر، حيث نقوم بإدخال العينات بشكل تسلسلي على فترات منتظمة في تيار حامل سائل ينقلها إلى المكشاف.

يظهر في الشكل ١ رسم تخطيطي يوضح بالتفصيل المكونات الاساسية لمحلل الحقن الجرياني. يتم وضع الكاشف الذي يعمل كحامل في خزان، وتحافظ وحدة الدفع على التدفق المستمر للحامل من خلال نظام الانابيب الذي يشتمل على نظام النقل. نقوم بحقن العينة مباشرة في التيار الحامل المتدفق، حيث تنتقل عبر منطقة خلط وتفاعل واحدة او اكثر قبل ان تصل الى مكشاف خلية الجريان. الشكل ١ هو ابسط تصميم لمحلل الحقن الجرياني والذي يتكون من قناة واحدة وخزان كاشف واحد. من الممكن ايضاً استخدام اجهزة متعددة القنوات التي تدمج القنوات المنفصلة معاً. كل منها يقدم كاشفاً جديداً في التيار الحامل.



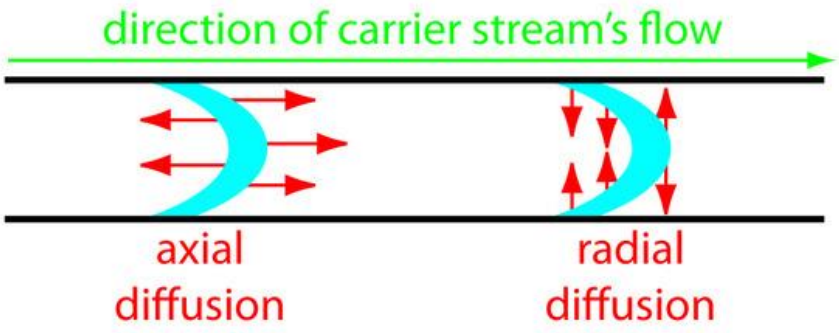
الشكل ١ رسم تخطيطي لمحلل الحقن الجرياني البسيط يوضح مكوناته الاساسية. بعد حقنها في التيار الحامل تختلط العينات وتتفاعل مع كواشف التيار الحامل قبل الوصول الى المكشاف.

عندما نقوم بحقن عينة لأول مرة في التيار الحامل، فانها تحتوي ملف تعريف جريان مستطيل بعرض W كما موضح في الشكل ٢ . عندما تتحرك العينة عبر منطقة المزج ومنطقة التفاعل، يزداد عرض ملف الجريان الخاص بها مع تشتت العينة في التيار الحامل. ينتج التشتت عن عمليتين: الحمل الحراري Convection الناتج عن جريان التيار الحامل والانتشار Diffusion بسبب تدرج التركيز بين العينة والتيار الحامل. يحدث الحمل الحراري عن طريق التدفق الصفيحي Laminar flow . السرعة الخطية للعينة عند جدران الانبوب هي صفر، لكن العينة الموجودة في مركز الانبوب تتحرك بسرعة خطية تساوي ضعف سرعة التيار الحامل. والنتيجة هي ملف تعريف الجريان الموضح في الشكل ٢ . الحمل الحراري هو الوسيلة الاساسية للتشتت في اول ١٠٠ ملي ثانية بعد حقن العينة.



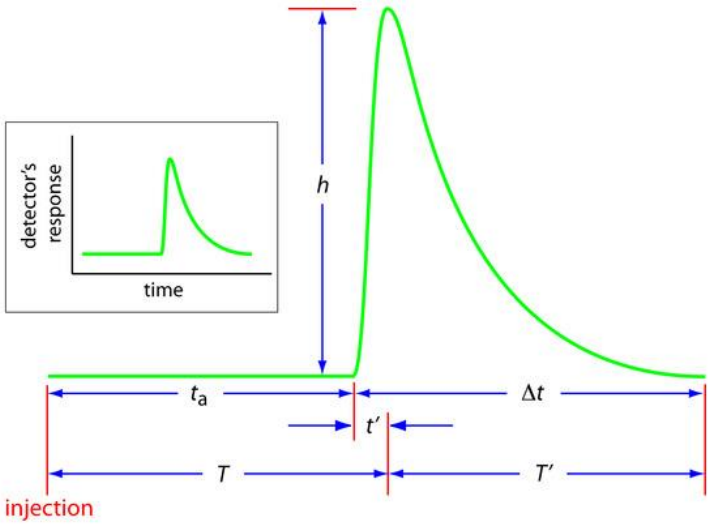
الشكل٢ : تأثير التشتت على شكل ملف جريان العينة، الموضح باللون الازرق، في اوقات مختلفة اثناء التحليل بالحقن الجرياني: أ- عند الحقن ، ب- عندما يهيمن الحمل الحراري على التشتت. ج- عندما يساهم الحمل الحرار والانتشار في التشتت. د- عندما يهيمن الانتشار على التشتت. يظهر الخط الاحمر العرض W لملف جريان العينات.

المساهم الثاني في تشتت العينة هو الانتشار بسبب تدرج التركيز الموجود بين العينة والتيار الحامل. كما هو موضح في الشكل ٣، يحدث الانتشار بالتوازي محورياً Axially وعمودياً شعاعياً Radially على الاتجاه الذي يتحرك فيه التيار الحامل. الانتشار الشعاعي فقط هو المهم في التحليل بالحقن الجرياني. يؤدي الانتشار الشعاعي الى تقليل السرعة الخطية للعينة في مركز الانبوب بينما تشهد العينة الموجودة عند حافة الانبوب زيادة في سرعتها الخطية. يساعد الانتشار في الحفاظ على تمام ملف جريان العينة الشكل٢ ويمنع العينات المتجاورة في التيار الحامل من التشتت في بعضها البعض. يقدم كل من الحمل الحراري والانتشار مساهمات كبيرة في التشتت من حوالي ٣-٢٠ ثانية بعد حقن العينة. هذا هو المقياس الزمني الطبيعي للتحليل بالحقن الجرياني. وبعد حوالي ٢٥ ثانية، يكون الانتشار هو المساهم الوحيد المهم في التشتت، مما يؤدي الى شكل جريان مماثل لما هو موضح في الشكل٢د.



الشكل٣: رسم توضيحي يوضح الانتشار المحوري والقطري ، اللون الازرق هو ملف تعريف جريان العينة وتشير الاسهم ذات اللون الاحمر الى اتجاه الانتشار.

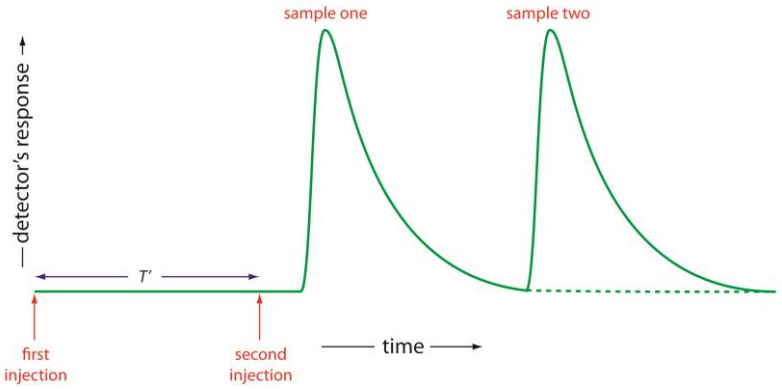
منحنى FIA، أو الرسم التخطيطي عبارة عن مخطط لإشارة المكشاف كدالة للزمن. يوضح الشكل٤ مخططاً نموذجياً للظروف التي يساهم فيها كل من الحمل الحراري والانتشار في تشتت العينة. يظهر ايضاً في الشكل العديد من المعلمات التي تميز الشكل التخطيطي للعينة. هناك معلمتان تحددان الوقت اللازم لانتقال العينة من الحاقن الى المكشاف. وقت الانتقال او وقت السفر t_a هو الوقت بين حقن العينة ووصول حافتها الامامية الى المكشاف. وقت الاقامة T من جانب آخر هو الوقت اللازم للحصول على أقصى إشارة. والفرق بين وقت الاقامة ووقت السفر هو t' والذي يقترب من الصفر عندما يكون الحمل الحراري هو الوسيلة الأساسية للتشتت، وتزداد قيمته عندما تصبح مساهمة الانتشار أكثر أهمية.



الشكل٤ : رسم تخطيطي نموذجي للتحليل بالحقن الجرياني يوضح استجابة المكشاف كدالة للزمن. انظر النص للحصول على شرح المعلمات.

يتم ايضاً وصف الوقت اللازم لمرور العينة عبر خلية الجريان التي تحتوي المكشاف ولكي تعود الاشارة الى خط الاساس Baseline بمعلمتين. الزمن من خط الاساس الى خط الاساس Δt هو الوقت بين وصول الحافة الأمامية للعينة إلى مغادرة الحافة الخلفية لها. الوقت المنقضي بين الإشارة القصوى وعودتها إلى خط الأساس هو وقت العودة، T'. المعلمة المميزة النهائية للشكل هي ذروة ارتفاع العينة h

من بين المعلمات الستة الموضحة في الشكل٤ اهمها ارتفاع الذروة ووقت العودة. ارتفاع الذروة مهم لأنه يرتبط بشكل مباشر او غير مباشر بتركيز المادة التحليلية Analyte وبالتالي، يتم تحديد حساسية طريقة FIA من خلال ارتفاع الذروة. يعد وقت العودة مهمًا لأنه يحدد عدد مرات حقن العينات. يوضح الشكل ٥ أنه إذا حقننا عينة ثانية في وقت T' بعد حقن العينة الأولى، فسيكون هناك تداخل بسيط بين منحنيي FIA. ومن خلال حقن العينات على فترات زمنية قدرها T'، نحصل على أقصى معدل ممكن لأخذ العينات.



الشكل٥: تأثير وقت العودة على تردد اخذ العينات.

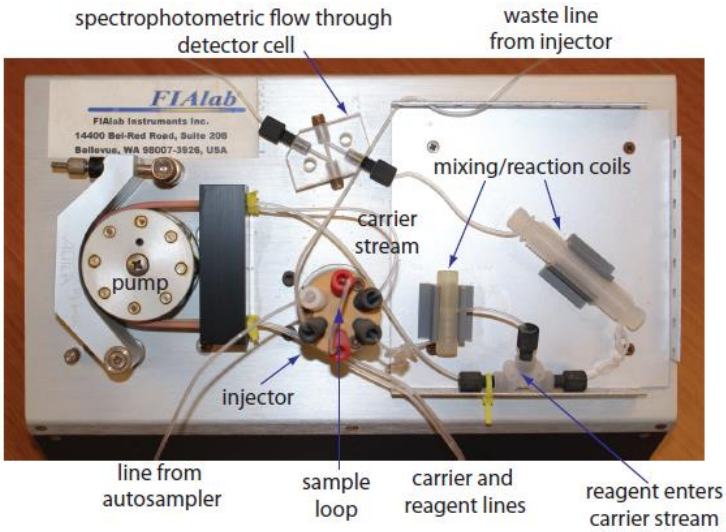
وتتأثر ارتفاعات الذروة واوقات العودة بتشتت ملف جريان العينة وبالخصائص الفيزيائية والكيميائية لنظام الحقن الجرياني. تتضمن المعلمات الفيزيائية التي تؤثر على h وT' حجم العينة التي نحقنها، ومعدل التدفق، وطول وقطر وهندسة مناطق الخلط والتفاعل، ووجود الوصلات التي تندمج فيها القنوات المنفصلة. تؤثر حركية اي تفاعلات كيميائية بين العينة والكواشف في التيار الحامل ايضاً على ارتفاع الذروة ووقت العودة.

لسوء الحظ، لا توجد نظرية جيدة يمكننا استخدامها للتنبؤ باستمرار، بذروة الارتفاع ووقت العودة لمجموعة معينة من المعلمات الفيزيائية والكيميائية. لايزال تصميم محلل الحقن الجرياني لمسألة تحليلية معينة يحدث الى حد كبير من خلال عملية التجريب. ومع ذلك يمكننا تقديم بعض الملاحظات العامة حول تأثيرات المعلمات الفيزيائية والكيميائية. في غياب التأثيرات الكيميائية ، يمكننا تحسين الحساسية – اي الحصول على ارتفاعات ذروة اكبر- عن طريق حقن عينات اكبر، او زيادة معدل الجريان، او عن طريق تقليل طول وقطر الانابيب في منطقة الامتزاج ومنطقة التفاعل او عن طريق دمج قنوات منفصلة قبل النقطة التي يتم فيها حقن العينة. وباستثناء حجم العينة ، يمكننا زيادة معدل اخذ العينات - اي تقليل وقت العودة- باستخدام نفس المجموعة من المعلمات الفيزيائية. ومع ذلك تؤدي احجام العينات الاكبر الى وقت عودة اطول وانخفاض في انتاجية العينة. يعتمد تأثير التفاعل الكيميائي على ما اذا كانت الانواع التي نراقبها مادة متفاعلة ام ناتجة. على سبيل المثال اذا كنا نراقب مادة متفاعلة ، فيمكننا تحسين الحساسية عن طريق اختيار الظروف التي تقلل من وقت الاقامة T ، او عن طريق ضبط حركة التيار الحامل بحيث يحدث التفاعل بشكل ابطأ.

الجهاز Instrumentation

تظهر المكونات الاساسية لمحلل الحقن الجرياني في الشكل٦ وتتضمن مضخة لدفع التيار الحامل وتيارات الكاشف، ووسيلة لحقن العينة في التيار الحامل، ومكشاف لمراقبة ما يتكون في التيار الحامل. توصيل هذه الوحدات هو نظام نقل يجمع قنوات منفصلة ويوفر الوقت للعينة لتمتزج مع التيار الحامل وتتفاعل مع تيارات

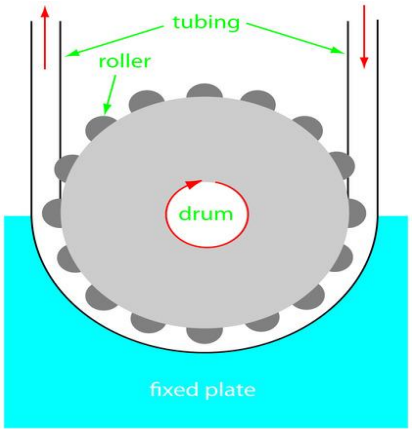
الكاشف. يمكننا أيضًا دمج وحدات الفصل في نظام النقل. سيتم تناول كل مكون من هذه المكونات بمزيد من التفصيل في هذا القسم.



الشكل٦: مثال لمحلل الحقن الجرياني النموذجي الذي يوضح المضخة والحاقن ونظام النقل الذي يتكون من ملفات المزج/التفاعل، والوصلات والمكشاف (بدون مقياس الطيف الضوئي). يحتوي هذا التكوين على قناتين: قناة التيار الحامل وقناة الكاشف.

وحدة الدفع Propelling Unit

تقوم وحدة الدفع بتحريك التيار الحامل من خلال محلل الحقن الجرياني. على الرغم من استخدام عدة وحدات دفع مختلفة، الا ان المضخة التمعجية هي الاكثر شيوعاً، والتي تتكون كما هو موضح في الشكل٧ من مجموعة من البكرات متصلة بالجزء الخارجي من اسطوانة دوارة. تثبت الانابيب القادمة من خزانات الكاشف والتيار الحامل بين البكرات واللوحة الثابتة. وعندما تدور الاسطوانة تضغط البكرات على الانابيب مما يجبر محتويات الانابيب على التحرك في اتجاه الدوران. توفر المضخات التمعجية معدل جريان ثابت والذي يتم التحكم فيه من خلال سرعة دوران الاسطوانة والقطر الداخلي للانبوب. معدلات التدفق الممكنة من 0.0005 الى 40 مل/دقيقة. وهو أكثر من كافٍ لتلبية احتياجات FIA حيث تكون معدلات التدفق الشائعة ٠.٥-٢.٥ مل / دقيقة. أحد القيود على المضخة التمعجية هو أنها تنتج تدفقًا نابضًا - خاصة عند معدلات التدفق الأعلى - مما قد يؤدي إلى تذبذبات في الإشارة.



الشكل٨: رسم تخطيطي لمضخة تمعجية

حاقن Injector

يتم حقن العينة عادة من ٥ الى ٢٠٠ ميكرولتر في التيار الحامل. على الرغم من أن الحقن عبر الحاجز المطاطي أمر ممكن، إلا أن الطريقة الأكثر شيوعًا - كما هو موضح في الشكل ٥ - هي استخدام حاقن دوار أو حلقي مشابه

لذلك المستخدم في HPLC. يوفر هذا النوع من الحاقن حجم عينة قابل للتكرار ويمكن تكييفه بسهولة مع التشغيل الآلي، وهي ميزة مهمة عند الحاجة إلى معدلات أخذ عينات عالية.

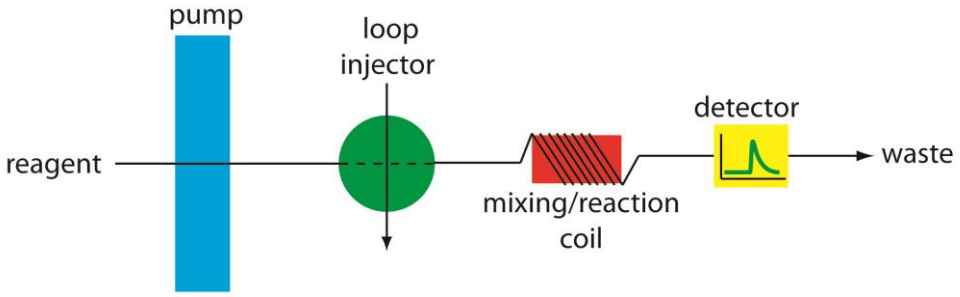
المكشاف Detector

إن أجهزة الكشف الأكثر استخدامًا لتحليل حقن التدفق هي أجهزة الكشف الكهروكيميائية والبصرية المستخدمة في HPLC.تم تصميم مكشافات FIA أيضًا تتضمن استخدام الأقطاب الكهربائية الانتقائية للأيونات ومطياف الامتصاص الذري.

نظام النقل Transport System

قلب محلل الحقن الجرياني هو نظام النقل الذي يجمع التيار الحامل والعينة واي كواشف تتفاعل مع العينة. يعتبر كل تيار كاشف قناة منفصلة، ويجب دمج جميع القنوات قبل ان يصل التيار الحامل الى المكشاف. نظام النقل الكامل يسمى ***المشعب manifold*** .

يشتمل المشعب الأبسط على قناة واحدة فقط، ويظهر الشكل الأساسي لها في الشكل ٩. يستخدم هذا النوع من المشعب بشكل شائع للتحليلات المباشرة التي لا تتطلب تفاعلًا كيميائيًا. في هذه الحالة، يعمل التيار الحامل فقط كوسيلة لنقل العينة بسرعة وبشكل متكرر إلى الكاشف. على سبيل المثال، تم استخدام هذا التصميم المتشعب لإدخال العينات في التحليل الطيفي للامتصاص الذري، مما حقق معدلات أخذ عينات تصل إلى ٧٠٠ عينة/ساعة. يُستخدم أيضًا مشعب أحادي القناة لتحديد الرقم الهيدروجيني للعينة أو تحديد تركيز أيونات المعادن باستخدام قطب كهربائي انتقائي للأيونات.



الشكل ٩ : مثال لمشعب أحادي القناة يعمل فيه الكاشف كتيار حامل وكنوع يتفاعل مع العينة. يتم لف ملف الخلط/التفاعل حول أسطوانة بلاستيكية.

يمكننا أيضًا استخدام المشعب أحادي القناة في الشكل ٩ للأنظمة التي نراقب فيها ناتج التفاعل الكيميائي بين العينة والمادة المتفاعلة. في هذه الحالة، يقوم التيار الحامل بنقل العينة إلى المكشاف ويتفاعل مع العينة.

ولأن العينة يجب أن تختلط مع التيار الحامل، يتم استخدام معدل تدفق أقل. أحد الأمثلة على ذلك هو تحديد الكلوريد في الماء، والذي يعتمد على التسلسل التالي من التفاعلات.

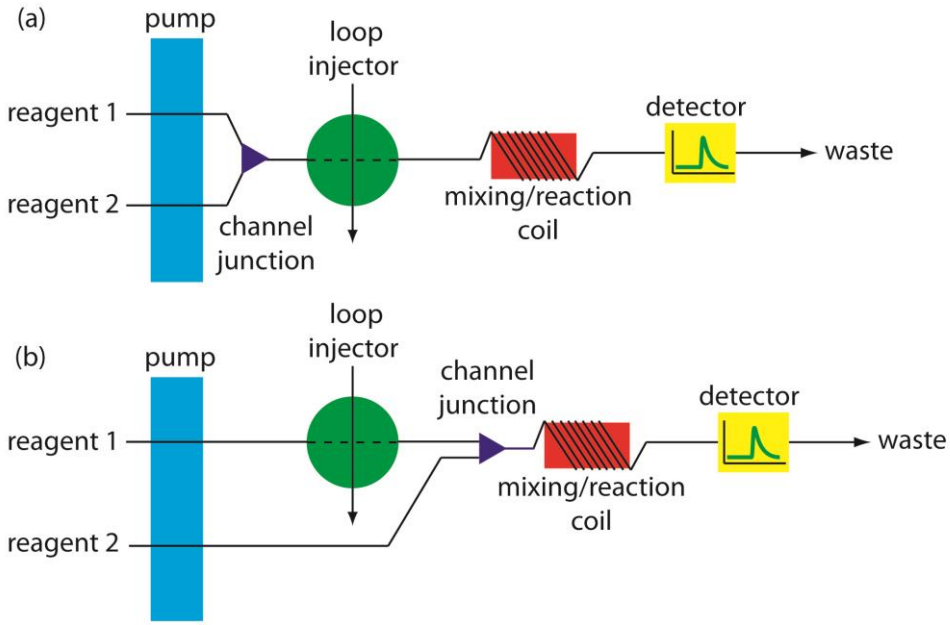
$$Hg(SCN)_{2(aq)}+2Cl^-_{(aq)}\leftrightharpoons HgCl_{2(aq)}+2SCN^-_{(aq)}$$

$$Fe^{3+}_{(aq)}+SCN^-_{(aq)}\leftrightharpoons Fe(SCN)^{2+}_{(aq)}$$

يتكون التيار الحامل من محلول حمضي من $Hg(SCN)_2$ وFe^{3+}. يؤدي حقن عينة تحتوي على الكلوريد في التيار الحامل إلى إزاحة الثيوسيانات من $Hg(SCN)_2$. يتفاعل الثيوسيانات النازح بعد ذلك مع Fe^{3+} لتكوين مركب $Fe(SCN)^{2+}$ ذو اللون الأحمر، والذي تتم مراقبة امتصاصه عند طول موجي قدره ٤٨٠ نانومتر. وقد تم تحقيق معدلات أخذ عينات تبلغ حوالي ١٢٠ عينة في الساعة باستخدام هذا النظام.

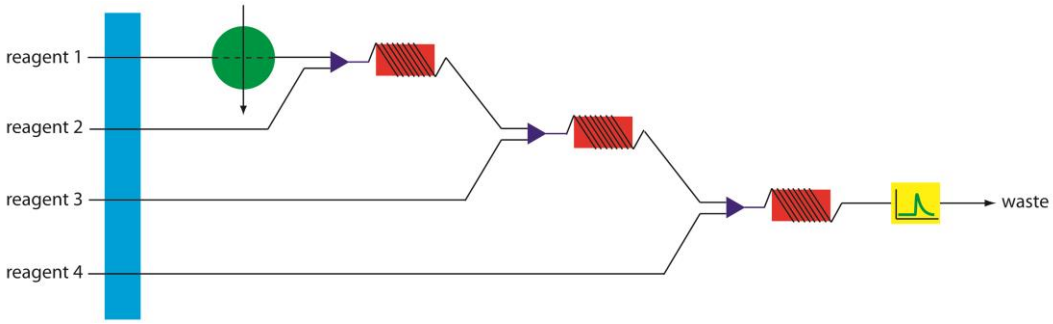
تستخدم معظم تحليلات الحقن الجرياني التي تتضمن تفاعلًا كيميائيًا مشعبًا بقناتين أو أكثر. يوفر تضمين قنوات إضافية مزيدًا من التحكم في خلط الكواشف والتفاعل بين الكواشف والعينة. هناك تكوينان ممكنان لنظام ثنائي القناة. يتم استخدام مشعب ثنائي القناة، مثل الموضح في الشكل ١٠أ، عندما لا يمكن خلط الكواشف مسبقًا بسبب تفاعلها. على سبيل المثال، في المحاليل الحامضية يتفاعل الفوسفات مع الموليبدات لتكوين حامض متعدد البروتون $H_3P(Mo_{12}O_{40})$. في وجود حمض الأسكوربيك، يتم اختزال الموليبدينوم في حامض المتعدد البروتون من Mo(VI) إلى Mo(V) ، مما يشكل معقداً أزرق اللون يتم مراقبته طيفيًا عند ٦٦٠ نانومتر. نظرًا لأن حامض الأسكوربيك يختزل الموليبدات، يتم وضع الكاشفين في قنوات منفصلة يتم دمجها قبل حقن العينة مباشرةً.

يمكن أيضًا استخدام مشعب ثنائي القناة لإضافة كاشف ثانٍ بعد حقن العينة في تيار حامل، كما هو موضح في الشكل ١٠ب. يُستخدم هذا النمط من المشعب في التحليل الكمي للعديد من التحاليل، بما في ذلك تقدير chemical oxygen demand في مياه الصرف الصحي (COD). يعد chemical oxygen demand مقياسًا لكمية المادة العضوية في عينة مياه الصرف الصحي. في الطريقة التقليدية للتحليل، يتم تحديد COD عن طريق إرجاع العينة لمدة ساعتين في وجود حمض وعامل مؤكسد قوي، مثل $K_2Cr_2O_7$ أو $KMnO_4$. عند اكتمال الارتجاع، يتم تحديد كمية المادة المؤكسدة المستهلكة في التفاعل عن طريق معايرة الأكسدة والاختزال. يتم هذا التحليل باستخدام التحليل بالحقن الجرياني، بحقن العينة في تيار حامل من H_2SO_4 المخفف، والذي يندمج مع محلول المادة المؤكسدة من قناة ثانوية. تفاعل الأكسدة بطيء حركيا. ونتيجة لذلك، تكون ملفات المزج والتفاعل طويلة جدًا، عادةً ٤٠ مترًا، ومغمورة في حمام منظم الحرارة. معدل أخذ العينات أقل من ذلك بالنسبة لمعظم تحليلات الحقن الجرياني، ولكن عند ١٠-٣٠ عينة / ساعة يكون أكبر بكثير من طريقة معايرة الأكسدة والاختزال.



الشكل ١٠: مثالان لمشعب ثنائي القناة للتحليل بالحقن الجرياني. في (أ) تندمج القناتان قبل الحاقن الحلقي، وفي (ب) تندمج القناتان بعد الحاقن الحلقي.

من الشائع وجود متشعبات أكثر تعقيدًا تشتمل على ثلاث قنوات أو أكثر، لكن المجموعة المحتملة من التصاميم كثيرة جدًا بحيث لا يمكن مناقشتها. يظهر أحد الأمثلة على مشعب رباعي القنوات في الشكل ١١.

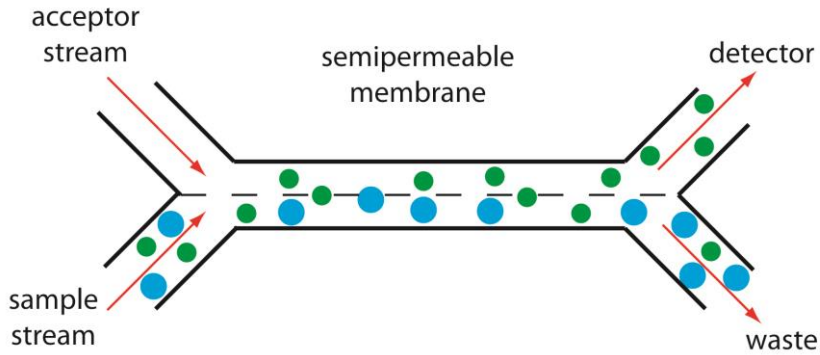


الشكل ١١: مثال لمشعب رباعي القنوات للتحليل بالحقن الجرياني.

وحدات الفصل Separation Modules

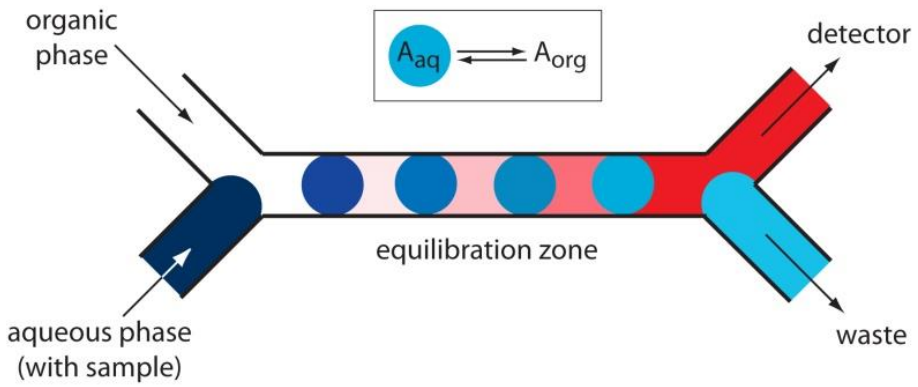
من خلال دمج وحدة الفصل في مشعب حقن التدفق، يمكننا تضمين عملية فصل - غسيل الكلى، والانتشار الغازي، واستخلاص السوائل السائلة - في تحليل حقن التدفق. على الرغم من أن عمليات الفصل هذه لم تكتمل أبدًا، إلا أنها قابلة للتكرار إذا سيطرنا بعناية على الظروف التجريبية.

يتم إجراء غسيل الكلى والانتشار الغازي عن طريق وضع غشاء نصف نافذ بين التيار الحامل الذي يحتوي على العينة والتيار المستقبل، كما هو موضح في الشكل ١٢. عندما يمر تيار العينة عبر وحدة الفصل، فإن جزءًا من تلك الأنواع القادرة على عبور الغشاء شبه المنفذ يفعل ذلك، ويدخل في التيار المستقبل. هذا النوع من وحدات الفصل شائع لتحليل العينات السريرية، مثل المصل والبول، حيث يفصل غشاء غسيل الكلى المادة التحليلية عن مصفوفتها المعقدة. تم استخدام أغشية الانتشار الغازي نصف المنفذة لتقدير الأمونيا وثاني أكسيد الكربون في الدم. على سبيل المثال، يتم تحديد الأمونيا عن طريق حقن العينة في تيار حامل من هيدروكسيد الصوديوم المائي. تنتشر الأمونيا عبر الغشاء شبه المنفذ إلى تيار مستقبل يحتوي على دليل حمض- قاعدة. تتم مراقبة التفاعل الحامضي القاعدي الناتج بين الأمونيا والدليل طيفيًا.



الشكل ١٢: وحدة الفصل لتحليل حقن التدفق باستخدام غشاء نصف منفذ. يمكن للمواد المذابة الخضراء الأصغر حجمًا أن تمر عبر الغشاء شبه المنفذ وتدخل التيار المستقبل، لكن المواد المذابة الزرقاء الأكبر حجمًا لا تستطيع ذلك. على الرغم من أن الفصل لم يكتمل - لاحظ أن بعض المذاب الأخضر يبقى في تيار العينة ويخرج كنفايات - إلا أنه قابل للتكرار إذا لم نغير الظروف التجريبية.

يتم إجراء عملية استخلاص سائل-سائل عن طريق دمج سائلين غير قابلين للامتزاج، يحمل كل منهما في قناة منفصلة. والنتيجة هي تدفق مجزأ من خلال وحدة الفصل، التي تتكون من أجزاء متناوبة من المرحلتين. عند مخرج وحدة الفصل، يتم فصل السائلين من خلال الاستفادة من الاختلاف في كثافتهما. يوضح الشكل ١٣ التكوين النموذجي لوحدة الفصل التي يتم فيها حقن العينة في طور مائي واستخلاصها إلى طور عضوي أقل كثافة يمر عبر المكشاف.



الشكل ١٣: وحدة الفصل للتحليل بالحقن الجرياني باستخدام استخلاص سائل-سائل. الأقحام يظهر التفاعل المتوازن. عندما تتحرك العينة عبر منطقة التوازن، تستخرج المادة التحليلية إلى الطور العضوي.

التطبيقات الكمية Quantitative Applications

في طريقة الحقن الجرياني الكمي، يتم تحديد منحنى المعايرة عن طريق حقن سلسلة من المعايير الخارجية التي تحتوي على تركيزات معروفة من المادة التحليلية. يعتمد تنسيق منحنى المعايرة - تشمل الأمثلة مخططات الامتصاص مقابل التركيز والجهد مقابل التركيز - على طريقة الكشف.

ملحوظة

يوضح المثال ١ مثالاً نموذجيًا لمنحنى المعايرة للتحليل بالحقن الجرياني.

تم استخدام التحليل بالحقن الجرياني لتحليل مجموعة واسعة من العينات، بما في ذلك العينات البيئية والسريرية والزراعية والصناعية والصيدلانية. تتضمن غالبية التحليلات عينات بيئية وسريرية، وهو محور هذا القسم. لقد تم تطوير طرق تحليلية لحقن التدفق التحليلي الكمي للملوثات الكاتيونية والأنيونية والجزيئية في مياه الصرف الصحي والمياه العذبة والمياه الجوفية والمياه البحرية، وقد وصفنا ثلاثة أمثلة لها في القسم السابق. يقدم الجدول١ قائمة جزئية للتحليلات الأخرى التي تم تحديدها باستخدام FIA، والعديد منها عبارة عن تعديلات على طرق قياس الطيف الضوئي وقياس الجهد القياسية. ومن المزايا الإضافية لـ FIA للتحليل البيئي القدرة على توفير المراقبة المستمرة للملوثات في الميدان.

الجدول ١ طرق التحليل بالحقن الجرياني المختارة للعينات البيئية

nalyte	sample	sample volume (µL)	concentration range	sampling frequency (h^{-1})
Ca^{2+}	freshwater	20	0.8–7.2 ppm	80
Cu^{2+}	groundwater	70–700	100–400 ppb	20
Pb^{2+}	groundwater	70–700	0–40 ppb	20
Zn^{2+}	sea water	1000	1–100 ppb	30-60
NH_4^+	sea water	60	0.18–18.1 ppb	288
NO_3^-	rain water	1000	1–10 ppm	40
SO_4^{2-}	fresh water	400	4–140 ppm	180
CN^-	industrial	10	0.3–100 ppm	40

Source: Adapted from Valcárcel, M.; Luque de Castro, M. D. Flow-Injection Analysis: Principles and Practice, Ellis Horwood: Chichester, England, 1987.

كما أشرنا في الفصل التاسع، تتضمن العديد من الطرق القياسية لتحليل الماء معايرة حامض وقاعدة، أو تكوين المعقدات، أو الأكسدة والاختزال. من السهل تكييف عمليات المعايرة هذه مع FIA باستخدام مشعب أحادي القناة مشابه لذلك الموضح في الشكل ٩. يتم وضع محلول المعايرة - الذي يجب أن يكون تركيزه أقل من تركيز المادة الحليلة من الناحية المتكافئة – ودليل مرئي في خزان الكاشف ويتم ضخهما بشكل مستمر من خلال المتشعب. عندما نحقن العينة، فإنها تمتزج جيدًا مع محلول المعايرة الموجود في التيار الحامل. ينتج عن التفاعل بين الزيادة من المادة التحليلية والمعاير، ملف جريان مستطيل واسع نسبيًا للعينة. عندما تتحرك العينة نحو المكشاف، يحدث مزيد من المزج ويتناقص عرض ملف الجريان الخاص بها. عندما تمر العينة عبر المكشاف، نحدد عرض ملف الجريان الخاص بها، Δt ، من خلال مراقبة امتصاص الدليل. يتم إعداد منحنى معايرة Δt مقابل لوغاريتم تركيزالمادة التحليلية باستخدام المحاليل القياسية للمادة التحليلية.

وقد وجد تحليل حقن التدفق أيضًا العديد من التطبيقات في تحليل العينات السريرية، باستخدام كل من الطرق الأنزيمية وغير الأنزيمية. يلخص الجدول ٢ عدة أمثلة.

الجدول ٢ طرق تحليل الحقن الجرياني المختارة للعينات السريرية

analyte	sample	sample volume (µL)	concentration range	sampling frequency (h^{-1})
nonenzymatic methods				
Cu^{2+}	Serum	20	0.7–1.5 ppm	70
Cl^-	Serum	60	50–150 meq/L	125
PO_4^{3-}	Serum	200	10–60 ppm	130
total CO_2	Serum	50	10–50 mM	70
chloropromazine	blood plasma	200	1.5–9 µM	24
enzymatic methods				
glucose	blood serum	26.5	0.5–15 mM	60
urea	blood serum	30	4–20 mM	60
ethanol	Blood	30	5–30 ppm	50

Source: Adapted from Valcárcel, M.; Luque de Castro, M. D. Flow-Injection Analysis: Principles and Practice, Ellis Horwood: Chichester, England, 1987.

تقدير الفوسفات بالتحليل بالحقن الجرياني Determination of Phosphate by FIA

وصف الطريقة Description of Method

يعد تحديد FIA للفوسفات بمثابة تعديل للتحليل الطيفي القياسي للفوسفات. في وجود الحمض، يتفاعل الفوسفات مع موليبدات الأمونيوم ليشكل مركبًا أصفر اللون يتواجد فيه الموليبدينوم على شكل Mo(VI).

$$H_3PO_{4(aq)}+12H_2MoO_{4(aq)}\leftrightharpoons H_3P(Mo_{12}O_{40})_{(aq)}+12H_2O_{(l)}$$

في وجود عامل اختزال، مثل حمض الأسكوربيك، يتم اختزال المركب ذو اللون الأصفر إلى مركب أزرق اللون من Mo(V).

المنهجية Procedure

إعداد الحلول الثلاثة التالية: (أ) ٥.٠ ملي مولاري موليبدات الأمونيوم في ٠.٤٠ مولاري HNO_3؛ (ب) ٠.٧% وزن/حجم حامض الأسكوربيك في ١% حجم/حجم جليسرين؛ و (ج) ١٠٠.٠ جزء في المليون من الفوسفات القياسي باستخدام KH_2PO_4. باستخدام معيار الفوسفات، تم إعداد مجموعة مقاييس خارجية بتراكيز الفوسفات ١٠، ٢٠، ٣٠، ٤٠، ٥٠ و٦٠ جزء في المليون. استخدم مشعبًا مشابهًا لذلك الموضح في الشكل ١٣.٢٦أ، مع

وضع ملف خلط مقاس ٥٠ سم بين المضخة والحاقن الحلقي وملف تفاعل مقاس ٥٠ سم بين الحاقن الحلقي والكاشف. لكلا الملفين، استخدم أنابيب PTFE بقطر داخلي ٠.٨ مم. تعيين معدل التدفق إلى ٠.٥ مل/دقيقة. إعداد منحنى المعايرة عن طريق حقن ٥٠ ميكرولتر من كل معيار، وقياس الامتصاصية عند ٦٥٠ نانومتر. ويتم تحليل العينات بنفس الطريقة.

أسئلة

١. كم من الوقت يستغرق انتقال العينة من الحاقن الحلقي إلى الكاشف؟

يبلغ طول ملف التفاعل ٥٠ سم، وقطره الداخلي ٠.٨ مم. حجم هذا الأنبوب هو

$$V = l \times \pi r^2 = 50\text{cm} \times \left(\frac{0.08\text{cm}}{2}\right)^2 \times \pi = 0.25\text{cm}^3 = 0.25\text{mL}$$

مع معدل تدفق قدره ٠.٥ مل/دقيقة، يستغرق الأمر حوالي ٣٠ ثانية لتمرير العينة عبر النظام.

٢. تشير تعليمات الطريقة الطيفية القياسية إلى أنه يجب قياس الامتصاصية بعد ٥-١٠ دقائق من إضافة حمض الأسكوربيك. لماذا تعتبر فترة الانتظار هذه ضرورية في طريقة القياس الطيفي، ولكنها ليست ضرورية في طريقة FIA؟

يعد اختزال مركب Mo(VI) ذو اللون الأصفر إلى مركب Mo(V) ذو اللون الأزرق بمثابة تفاعل بطيء. في الطريقة الطيفية القياسية، من الصعب التحكم بشكل متكرر في الوقت بين إضافة الكواشف إلى العينة وقياس امتصاص العينة. لتحقيق دقة جيدة، نسمح للتفاعل بالاستمرار حتى الاكتمال قبل أن نقيس الامتصاص. كما يتضح من إجابة السؤال السابق، في طريقة FIA، يحدد معدل التدفق وأبعاد ملف التفاعل وقت التفاعل. ولأن هذه المرة يتم التحكم فيها بدقة، فإن التفاعل يحدث بنفس القدر لجميع المعايير والعينات. يتمتع وقت التفاعل الأقصر بميزة السماح بإنتاجية أعلى للعينات.

٣. توصي الطريقة الطيفية باستخدام معايير الفوسفات من ٢-١٠ جزء في المليون. اشرح لماذا تستخدم طريقة FIA نطاقًا مختلفًا من المعايير.

في طريقة FIA، نقوم بقياس الامتصاصية قبل اكتمال تكوين مركب Mo(V) ذو اللون الأزرق. نظرًا لأن الامتصاص لأي محلول قياسي من الفوسفات يكون دائمًا أصغر عند استخدام طريقة FIA، فإن طريقة FIA أقل حساسية ومن الضروري وجود تركيزات أعلى من الفوسفات.

٤. كيف يمكنك دمج كاشف خلب في تحليل FIA؟

يمكن الحصول على كاشف خلب عن طريق حقن عينة من الماء المقطر بدلاً من المعيار الخارجي أو العينة. يتم طرح امتصاصية الكاشف الخلب من الامتصاصات التي تم الحصول عليها للمعايير والعينات.

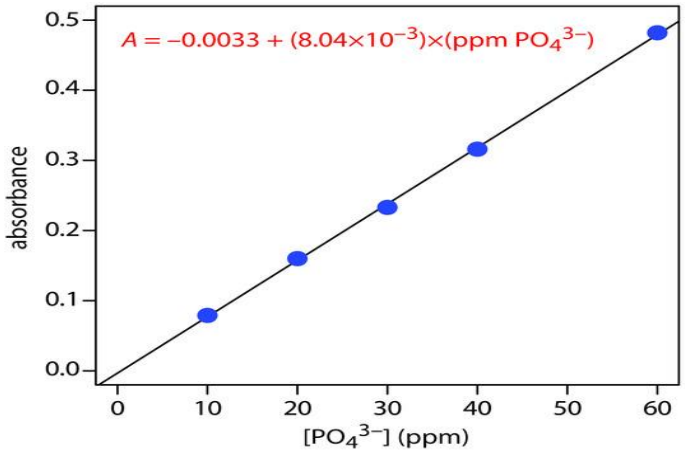
مثال١: تم الحصول على البيانات التالية لمجموعة من المعايير الخارجية عند استخدام الطريقة التمثيلية لتحليل الفوسفات في عينة مياه الصرف الصحي.

$[PO_4^{3-}]$ (ppm)	absorbance
10.00	0.079
20.00	0.160
30.00	0.233
40.00	0.316
50.00	0.482

ما تركيز الفوسفات في العينة إذا كان امتصاصه ٠.٢٨٧؟

الحل

يوضح الشكل ١٤ منحنى ومعادلة المعايرة القياسية الخارجية. التعويض بامتصاص العينة يعطي تركيز الفوسفات في العينة ٣٦.١ جزء في المليون.



الشكل ١٤: منحنى المعايرة ومعادلة البيانات في المثال ١.

التقييم Evaluation

غالبية تطبيقات التحليل بالحقن الجرياني هي تعديلات على طرق التحليل التقليدية بالمعايرة والقياس الطيفي والكهروكيميائية؛ وبالتالي، فمن المناسب مقارنة أساليب FIA بالطرق التقليدية. يسمح نطاق عمليات FIA بالتحليل الروتيني للتحليلات الثانوية والتتبعية، وللعينات الكلية والمتوسطة والجزئية. تعد القدرة على العمل بأحجام حقن ميكروليتر مفيدة عندما تكون العينة نادرة. عادة ما يكون للطرق التقليدية للتحليل حدود كشف أصغر.

دقة ومصداقية أساليب FIA قابلة للمقارنة مع طرق التحليل التقليدية. تتأثر دقة تحليل حقن التدفق بعدة متغيرات لا تؤثر على الطرق التقليدية، بما في ذلك استقرار معدل التدفق وإمكانية تكرار نتائج حقن العينة. بالإضافة إلى ذلك، قد تكون نتائج FIA أكثر عرضة للتغيرات في درجات الحرارة.

بشكل عام، حساسية FIA أقل من حساسية طرق التحليل التقليدية لسببين على الأقل. أولاً، كما هو الحال مع الطرق الحركية الكيميائية، يتم إجراء القياسات في FIA في ظل ظروف غير متوازنة عندما تكون الإشارة لم تصل بعد إلى قيمتها القصوى. ثانياً، يخفف تشتت العينة أثناء تحركها عبر المشعب. ونظرًا لأن المتغيرات التي تؤثر على الحساسية معروفة، فيمكننا تصميم مشعب FIA لتحسين حساسية الطريقة.

غالبًا ما تكون انتقائية طريقة FIA أفضل من طريقة التحليل التقليدية المقابلة. وفي كثير من الحالات، يرجع ذلك إلى الطبيعة الحركية لعملية القياس، حيث قد تتفاعل العناصر المتداخلة المحتملة بشكل أبطأ من المادة التحليلية. كما أن التلوث من مصادر خارجية يمثل مشكلة أقل لأنه يتم تخزين الكواشف في خزانات مغلقة ويتم ضخها من خلال نظام أنابيب نقل مغلق عن البيئة.

وأخيرًا، يعد FIA أسلوبًا جذابًا عند النظر في الوقت والتكلفة والمعدات. عند استخدام جهاز أخذ العينات التلقائي، يمكن لطريقة التحليل بالحقن الجرياني تحقيق معدلات أخذ عينات عالية جدًا. معدل أخذ العينات من ٢٠ إلى ١٢٠ عينة / ساعة ليس أمرًا غير معتاد ومن الممكن أن تصل معدلات أخذ العينات إلى ١٧٠٠ عينة / ساعة. نظرًا لأن حجم مشعب الحقن الجرياني صغير، عادةً أقل من ٢ مل، فإن استهلاك الكواشف أصغر بكثير من استهلاك الطريقة التقليدية. وهذا يمكن أن يؤدي إلى انخفاض كبير في التكلفة لكل تحليل. يتطلب التحليل بالحقن الجرياني الحاجة إلى معدات إضافية - مضخة، وحاقن حلقي، ومشعب - مما يزيد من تكلفة التحليل.