

ANÀLISI PER INJECCIÓ EN FLUX UNA NOVA TÈCNICA D'ANÀLISI AUTOMÀTICA DE GRAN APLICACIÓ EN QUÍMICA CLÍNICA

per

JORDI BARTROLÍ I SALVADOR ALEGRET

*Departament de Química Analítica
Universitat Autònoma de Barcelona*

SUMMARY

A short description of Flow Injection Analysis (FIA) is given. The application of this analytical technique in Clinical Chemistry is emphasized.

El nombre de mostres analitzades per instruments automatitzats és molt gran. No és gens estrany, doncs, que només en Química Clínica siguin dutes a terme de forma automatitzada milions d'anàlisis l'any i que hom faci grans esforços econòmics per a desenvolupar i construir nous analitzadors automàtics destinats a cobrir les múltiples exigències de les organitzacions sanitàries modernes. Amb tot, hi ha poques firmes comercials que ofereixin equips adequats, atès que, en general, la instrumentació automatitzada sol ésser complexa i d'alt preu.

A la xarxa sanitària catalana veiem també que un gran nombre de mostres són analitzades automàticament, especialment en els grans hospitals, amb equips costosos i de manteniment car. No cal dir que hom veuria amb interès de poder disposar d'equips automatitzats de baix cost, com més versàtils millor, susceptibles d'ésser emprats també en centres hospitalaris petits, com els d'àmbit comarcal. A més a més, equips d'aquesta natura haurien d'entrar en règim de funcionament en un temps curt, per tal de poder ésser emprats en laboratoris clínics d'urgència.

L'Anàlisi per Injecció en Flux o *Flow Injection Analysis* (FIA) poseeix, entre d'altres, les característiques acabades d'esmentar. Es basa en la introducció (injecció) de la mostra en un flux continu no segmentat del reactiu. L'instrumental bàsic relatiu a aquesta tècnica (bomba peristàltica, vàlvula d'injecció, tubs de reacció i sistema de detecció) és fàcilment assequible a partir de materials corrents. També hom pot adquirir en el comerç equips compactes de preu no gaire alt. No obstant això, la introducció recent d'aquesta tècnica en camps tan diversos com els de tipus clínic, farmacèutic, alimentari, ambiental, etc., ha estat feta amb equips casolans no comercials.

Principis bàsics de la FIA

L'anàlisi per injecció en un flux es fonamenta¹⁴ en el comportament perfectament reproducible d'un corrent continu de líquid en unes condicions geomètriques fixes i una velocitat de flux constant. La inserció d'un determinat volum de mostra dins el flux portador, tot experimentant en el seu si una reacció o simplement una mescla, dona lloc a senyals analítics perfectament reproduïbles mesurables amb qualsevol detector de flux continu.

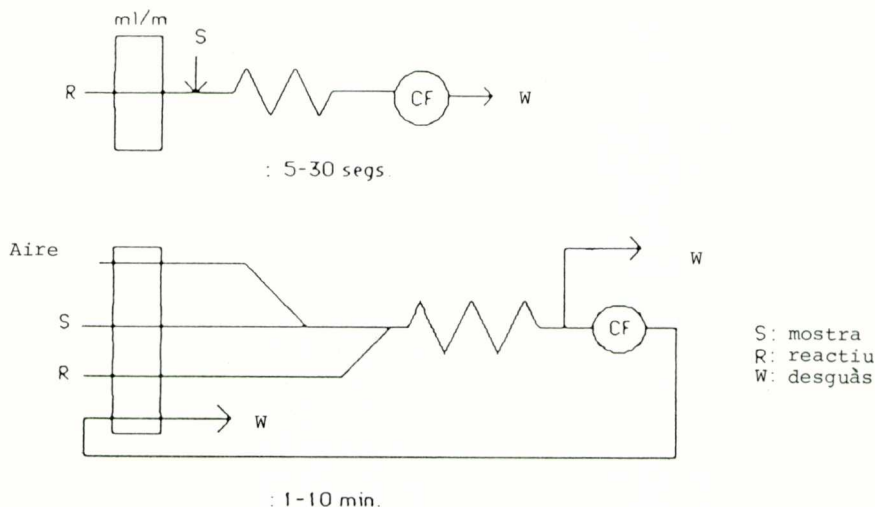


Fig. 1 - Tècniques d'anàlisi per flux continu. A: Anàlisi per injecció en flux (FIA).
B: Anàlisi en flux segmentat (SFA).

En una visió superficial, hom podria creure que la FIA és el mateix que la coneguda Anàlisi en Flux Segmentat o SFA (*Segmented Flow Analysis*), associada normalment a la casa comercial Technicon, la qual ha explotat aquesta darrera tècnica per mitjà dels equips coneguts com a «autoanalysers». La fig. núm. 1 ens esquematitza ambdues tècniques, que en termes generals poden ésser classificades com de flux continu.

Cal remarcar que la FIA presenta dues importants peculiaritats:

- ¹ J. RUZICKA i E. H. HANSEN, *Flow Injection Analysis*, Nova York, John Wiley, 1981.
- ² M. VALCÁRCEL i M. D. LUQUE DE CASTRO, *Análisis por Inyección en Flujo*, Córdoba, Caja de Ahorros y Monte de Piedad de Córdoba, 1984.
- ³ B. ROCKS i C. RILEY, «Flow-Injection Analysis: A New Approach to Quantitative Measurements in Clinical Chemistry», *Clin. Chem.*, 28, 409-421 (1982).
- ⁴ W. R. SEITZ i M. L. GRAYESKI, «Flow-Injection Analysis: A New Approach to Laboratory Automation», *J. Clin. Lab. Autom.*, 4, 169-182 (1984).

- a) La mostra és injectada — o més pròpiament inserida —, i no aspirada, i
- b) No hi ha segmentació per aire entre les mostres successivament introduïdes en el sistema.

Durant molt de temps, la segmentació del flux mitjançant bombolles d'aire fou un requisit indispensable per a eliminar la possible «contaminació» entre elles de les nostres introduïdes en el sistema. La gran innovació dels pioners de la FIA fou mostrar que l'amplada de la banda d'una mostra injectada en un flux continu es pot limitar tot jugant amb el volum d'injecció, la velocitat del flux (1 - 5 ml/min) i fent servir tubs de diàmetre intern petit ($\cong 0.5\text{mm}$).

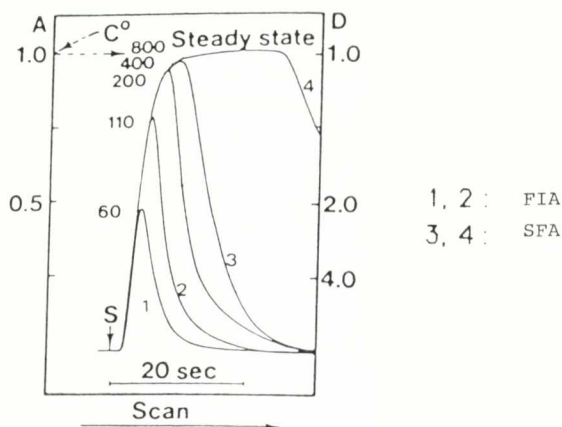


Fig. 2 - Senyals analítics en FIA i SFA.

Mitjançant aquestes simples innovacions, el control de la dispersió de la mostra en un sistema FIA presenta molts avantatges. Un dels més importants, a causa de la no segmentació, és que permet una més gran reproductibilitat del sistema analític i un disseny d'aquest més simple (més barat). Això, que ja és evident per a sistemes d'un sol canal, és molt més apreciable per a sistemes multicanal.

Com que en FIA hom pot tenir un control precís de la dispersió de la mostra, no cal obtenir un senyal analític (estable) que correspongui a la mostra sense dispersar, com és el cas de la SFA. Per això, els senyals analítics enregistrats per mitjà d'una tècnica i de l'altra són significativament diferents. La fig. núm. 2 en dóna detall.

És evident, de l'observació d'aquesta figura, que en FIA hom necessita menys quantitat de mostra i que la velocitat de mostratge pot ésser més gran, ja que no cal esperar que hi hagi un senyal estable.

La potencialitat i versatilitat de la FIA queda posada de manifest, tant per la diversitat de sistemes de detecció en flux continu existents, com per les dife-

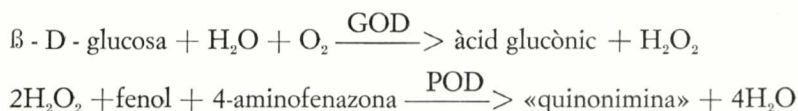
rents tècniques analítiques que li són aplicables. En efecte, d'un cantó, l'espectrofotometria UV-Vis, de fluorescència, d'absorció atòmica, de quimioluminescència, la fotometria de flama, la nefelometria o la potenciomètria, amb elèctrodes selectius d'ions, i diversos sistemes ampeomètrics, són els més importants sistemes de detecció adaptables a FIA. De l'altre, hom ha anat adaptant a FIA les tècniques analítiques necessàries, fins on ha estat possible, que van des del transport de la mostra, ja sigui per a mesurar el pH o per a introduir-la d'una forma més reproducible o amb menys interferències (en el cas de detecció per absorció atòmica o per fotometria de flama), fins a tècniques com l'extracció, la difusió o la diàlisi.

En resum, podem dir que la FIA és una nova eina per a dur a terme d'una manera ben simple les tasques analítiques de sempre. Alhora és una nova forma de fer els mesuraments analítics: hom no hi fa mai la lectura analítica en condicions d'equilibri ni amb una solució homogènia de la mostra. El perfil de concentracions que crea la tècnica FIA, deguts a la dispersió de la mostra en el si del flux, obre un nou ventall de possibilitats, ja que l'anàlisi pot ésser feta a diverses relacions de concentració de reactiu i mostra.

Alguns aspectes de la FIA desenvolupats als nostres laboratoris

Des de la introducció d'aquesta tècnica als nostres laboratoris de Bellaterra l'any 1981, hom ha anat desenvolupant metodologies d'anàlisi per FIA en diversos camps, con la determinació de furfural en begudes alcohòliques⁵ o la determinació de glucosa en sèrum sanguini.⁶ En ambdós mètodes el mesurament analític és efectuat espectrofotomètricament. El segon dels casos acabats d'esmentar és un exemple de l'aplicació de la FIA a problemes de Química Clínica.

La figura núm. 3 esquematitza el muntatge utilitzat per a la determinació de la glucosa per mitjà de la coneguda reacció enzimàtica de Trinder:



Amb un esquema tan simple con l'il·lustrat, hom pot arribar a determinar 60 mostres per hora. El sèrum és injectat en el canal de dilució sense cap tractament previ i, a fi d'obtenir una bona mescla amb els reactius, a causa

⁵ J. ALONSO, J. BARTROLÍ i M. BLANCO, «Determinación de furfural mediante Análisis por Inyección en Flujo», *Quím. Anal.*, 1, 261-267 (1982).

⁶ M. J. MEDINA, J. BARTROLÍ, J. ALONSO, M. BLANCO i J. FUENTES, «Direct Determination of Glucose in Blood Serum Using Trinder's Reaction», *Anal. Letters*, 17, 385-396 (1984).

de la viscositat de la mostra, hom fa servir un petit reactor de fàcil construcció (SBSR).

Pel que fa a la detecció en FIA, el nostre grup de treball també s'ha ocupat de l'aplicació de sensors potenciomètrics, atès que fins ara no hi ha unitats comercials d'aquesta mena, la qual cosa fa que ens hàgim preocupat d'aquest punt des d'una perspectiva de possible innovació tecnològica.

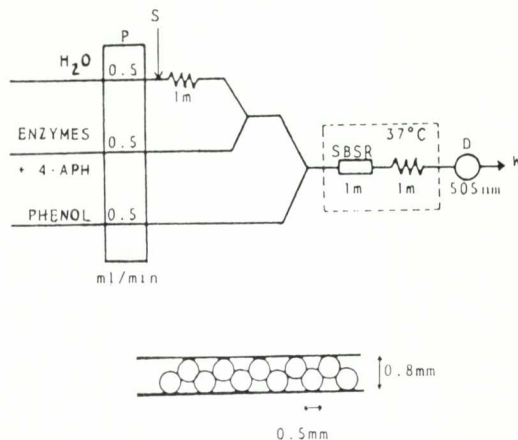


Fig. 3 - Diagrama per a la determinació enzimàtica de glucosa utilitzant la reacció de Trinder. P: bomba; S: inserció de la mostra; D: detector; W: desguàs; SBSR: reactor empaquetat amb boletes de vidre; diàmet. in. tub: 0,57 mm.

En aquesta direcció, han estat estudiades diferents configuracions d'elèctrodes susceptibles d'ésser aplicades a FIA. La configuració que ha resultat més idònia ha estat, com calia esperar, la tubular, la qual distorsiona menys el flux ⁷ (vid. fig. núm. 4).

Especialment hom s'ha centrat en el desenvolupament de sistemes sensors que permetin de miniaturitzar i compactar els dispositius de detecció per tal de confeir sistemes FIA de multianàlisi.⁸

Cal esmentar que hem trobat resultats molt satisfactoris amb sistemes potenciomètrics desenvolupats per primera vegada, basats en membranes selectives d'ions amb el sensor immobilitzat en una matriu de PVC, aplicades directament a un suport tubular d'epoxi amb base d'argent, la qual cosa elimina la necessitat de solucions internes, de referència, que complicaria innecesàriament el dis-

⁷ S. ALEGRET, J. ALONSO, J. BARTROLÍ, J. M. PAULÍ, J. L. F. C. LIMA i A. A. S. C. MACHADO, «Flow-Through Tubular PVC Matrix Membrane Electrode without Inner Reference Solution for Flow Injection Analysis», *Anal. Chim. Acta*, 164, 147-152 (1984).

⁸ J. ALONSO, J. BARTROLÍ, J. L. F. C. LIMA i A. A. S. C. MACHADO, «Flow-Injection Biparametric Determination of Ca(II) (by Potentiometry) and Mg(II) (by Atomic Absorption Spectrometry) in Residual Waters». A publicar a *Anal. Chim. Acta*.

seny.^{9,10} També hom fa esforços en la direcció de posar a punt elèctrodes tubulars de membrana cristal·lina heterogènia amb base d'epoxi, selectius als halurs i a alguns ions metàl·lics.

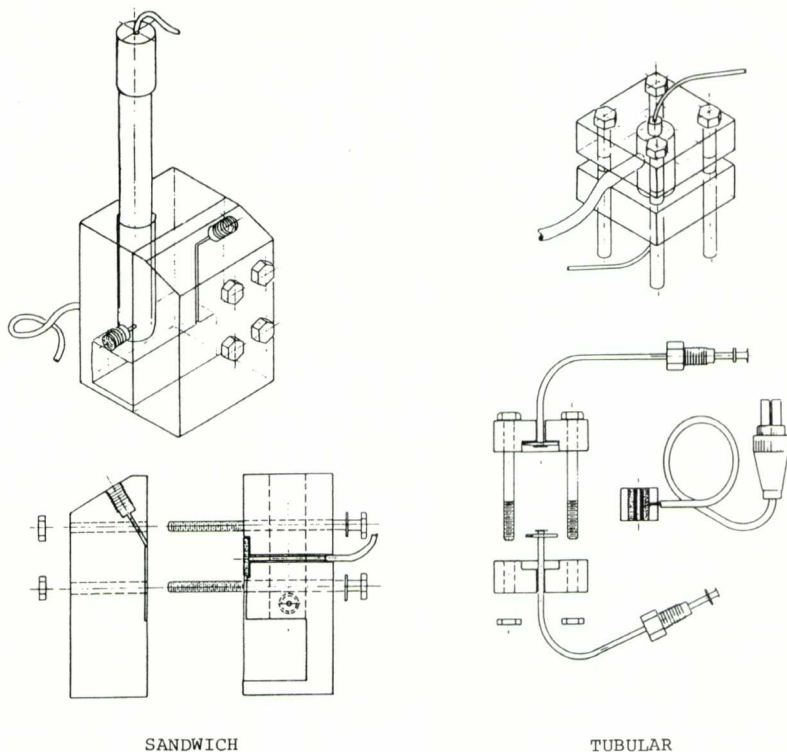


Fig. 4. - Configuracions de sistemes potenciomètrics. A: configuració «sandwich»
B: configuració tubular.

Alguns d'aquests sistemes de detecció potenciomètrica (Ca^{2+} , K^+ , Cl^- , etc.) donaran peu a l'establiment de metodologies d'anàlisi d'aquests ions en mostres biològiques.

⁹ J. L. F. C. LIMA, A. A. S. C. MACHADO, A. FLORIDO, S. ALEGRET i J. M. PAULÍS, «Nitrate-Selective Electrode with PVC matrix Membrane Applied to Electrically Conductive Epoxy». *Quím. Anal.*, en premsa (1985).

¹⁰ S. ALEGRET, A. FLORIDO, J. L. F. C. LIMA i A. A. S. C. MACHADO, «Perchlorate-Selective Electrode with PVC Matrix Membrane Applied to Electrically Conductive Epoxy». A publicar a *Quím. Anal.*