

(19) BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



Patent beschränkt
aufrechterhalten nach
§ 12 Abs. 3 ErstrG

(12) **PATENTSCHRIFT**
(11) **DD 294 569 B 5**

(51) Int. Cl.⁶: **G 01 N 35/08**
G 01 N 1/14
B 01 F 3/08

DEUTSCHES PATENT- UND MARKENAMT

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Aufrechterhaltung kann Einspruch eingelegt werden

(21) Aktenzeichen:	(22) Anmeldetag:	(44) Veröff.-tag der DD-Patentschrift:	(45) Veröff.-tag der Aufrechterhaltung:
DD G 01 N / 339 930 1	20. 04. 90	02. 10. 91	26. 11. 98

(30) Unionspriorität:
—

(72) Erfinder:	Gründig, Bernd, Dr. rer. nat., 04347 Leipzig, DE; Krabisch, Christa, 04315 Leipzig, DE; Strehlitz, Beate, 04129 Leipzig, DE; Kopinke, Holm, Dipl.-Ing., 04318 Leipzig, DE
(73) Patentinhaber:	UFZ – Umweltforschungszentrum Leipzig–Halle GmbH, Permoserstr. 15, 04318 Leipzig, DE
(74) Vertreter:	Dipl.-Chem. Klaus W. Gulde; Dipl.-Chem. J. D. Hengelhaupt; Dipl.-Chem. Dr. M. K. Ziebig, Pat.-Anwälte, 10785 Berlin

(54) Anordnung zur Bestimmung von Analyten in flüssigen Medien

(56) Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht gezogene Druckschriften:
EP 0 081 116 B 1 EP 0 019 579 A 1

Patentansprüche:

1. Anordnung zur Bestimmung von Analyten in flüssigen Medien nach dem Prinzip der Fließinjektionsanalyse mit Schlauchpumpe, Schaltventil, Injektionsventil und Detektionssystem, bestehend aus Durchflußmeßzelle und Sensor/Detektor, **dadurch gekennzeichnet**, daß zwischen dem Schaltventil (5) und dem Injektionsventil (4) eine Kolbendosierpumpe (1) angeordnet ist, welche zur Durchmischung von Lösung und Probe im Pumpenzylinder mit drei aufeinanderfolgenden Ansaughüben Lösung, Probe und wiederum Lösung ansaugt und das Gemisch in das Injektionsventil (4) ausstößt, wobei die Kolbendosierpumpe (1) und das Schaltventil (5) in entsprechender Weise durch eine Elektronikeinheit gesteuert sind.
2. Anordnung nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Zuleitung zu der Kolbendosierpumpe (1) mit einer Wirbelkammer und/oder mit Schikanen kombiniert ist.
3. Anordnung nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Kolbendosierpumpe (1) von einem mikrorechnergesteuerten Schrittantrieb betätigbar ist.
4. Anordnung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Anordnung zur Realisierung hoher Meßfrequenzen zwei zeitlich versetzt arbeitende Kolbendosierpumpen (1) aufweist.

Hierzu 1 Seite Zeichnung

Die Erfindung betrifft eine Anordnung zur Bestimmung von Analyten in flüssigen Medien, die insbesondere als Bestandteil eines Prozeßanalysators in der Biotechnologie, der Wasserwirtschaft, der Abwasserbehandlung und der chemischen Industrie einsetzbar ist.

Die Flow-Injection-Analysis (FIA) wurde durch Hansen und Ružicka 1977 erstmalig beschrieben (Anal. Chim. Acta 89 [1977], 241) und setzt sich seitdem in zunehmendem Maß insbesondere bei automatisierbaren Routineanalysen flüssiger Medien, die hohe Analysefrequenzen erfordern, durch.

Dieses Analysesystem besteht im wesentlichen aus einer kontinuierlichen fördernden Trägerstrompumpe, einem Injektionsventil – wie aus der Flüssigchromatographie bekannt –, einer nachfolgenden Misch- bzw. Reaktionskammer und einem Detektorsystem. Über das Injektionsventil wird die zu untersuchende Probe mit definiertem Volumen in den Trägerstrom injiziert und in der Mischstrecke verdünnt bzw. einer Reaktion ausgesetzt und dem Detektionssystem zugeführt. Das resultierende Meßsignal weist eine Peakform auf. Auf dieser Basis arbeiten eine Reihe kommerziell erhältlicher Analysengeräte (z. B. FI-Astar 5010 System, Tecator; K-1000, Hitachi). Für Belange der Prozeßmeßtechnik ist die FIA insofern von Interesse, als aufgrund der möglichen hohen Meßfrequenz eine quasikontinuierliche Messung realisierbar ist. Allerdings stehen einer solchen Anwendung die große Totzeit zwischen der Entnahme der Probe und deren Ausmessung entgegen, da eine vergleichsweise große Zeitdauer zur Durchmischung der Probe mit der Träger- bzw. Reaktionsflüssigkeit erforderlich ist, zumal bei Anwendungen auf komplex zusammengesetzte Medien eine Verringerung des Strömungsquerschnittes der Mischstrecke nur begrenzt möglich ist. Ein anderes Problem besteht in der mangelnden Variabilität zur Erstellung beliebiger Kalibrierkurven und „Echtzeitverdünnungen“ während der Prozeßkontrolle, die nicht ohne zusätzlichen Aufwand (Schlauchwechsel, Bereitstellung einer Vielzahl von Kalibrierlösungen) erreichbar ist. Neue Ansatzpunkte dazu wurden durch die von Clark und Mitarbeiter (Anal. Chem. 61 [1989], 1773) vorgestellte Split-Zone-FIA gegeben, die variabel einstellbare Verdünnungen bis zum Faktor 1:15000 bei minimalem Reagensverbrauch ermöglicht. Bedingung ist jedoch, daß keine Änderungen bzw. Schwankungen in der Schlauchgeometrie und der Förderleistung der verwendeten Pumpen auftreten. Eine Alternative bei der Kalibrierung von FIA-Systemen sehen Müller und Kramer (Fresenius, Z. Anal. Chem. 335 [1989], 205) im Verlauf des indizierten Signalpeaks nach Injektion des diskreten Probenvolumens, bei der zeitabhängig die gewünschte unendliche Verdünnungsreihe selbst erzeugt wird. Eine solche Verdünnungskurve ist durch die Gauss'sche Gammafunktion beschreibbar. Dieses setzt jedoch – neben einer hohen zeitlichen Reproduzierbarkeit – eine annähernd gleiche physikochemische Beschaffenheit von Probenmedien und Kalibrierung voraus, was für Messungen z.B. in Medien, deren Viskosität sich während des Prozeßverlaufes ändert, nicht zu erwarten ist.

Weiterhin ist aus der EP 00 81 116 B1 ein Fließinjektionsanalysensystem bekannt, welches eine Mischstrecke aufweist und der kontinuierlichen Strömungsanalyse einer flüssigen Probe dient.

Die EP 00 19 579 A1 beschreibt eine stets diskontinuierlich arbeitende Mischvorrichtung mit zwei Kolbendosierpumpen und einer Mischarmatur. Gemäß dieser Lösung ist in jedem Fall die Mischung über die Mischvorrichtung und die Verwendung beider Kolbenpumpen vorgesehen, weshalb auch immer von der Verwendung zweier Kolbendosierpumpen zur Herstellung einer Mischung ausgegangen wird. Ein Fließinjektionsanalysensystem ohne Mischstrecke unter Verwendung einer Kolbendosierpumpe ist mit dieser Lösung nicht zu realisieren.

Ziel der Erfindung ist eine Anordnung zur Bestimmung von Analyten in flüssigen Medien, die einen geringen Aufwand für Kalibrierungen erfordert, sowie minimale Totzeiten zwischen Probenahme und Messung, eine hohe Meßgenauigkeit und den Einsatz als flexibel anpaßbares analytisches System in einem Prozeßgerät zur quasikontinuierlichen Prozeßkontrolle ermöglicht. Aufgabe der Erfindung ist eine Anordnung, die ohne Veränderung des apparativen Aufbaus frei wählbare

Mischungsverhältnisse zuläßt. Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe mit einer Anordnung mit den Merkmalen des Patentanspruchs 1 gelöst. Anstelle der zwischen Injektionsventil und Detektionssystem befindlichen Mischstrecke ist eine variabel einstellbare Kolbendosier-Mischeinrichtung unmittelbar vor der Probeschleife des Injektionsventils angeordnet. Als variabel einstellbare Dosier- und

Mischeinrichtung dient eine mikrorechnergesteuerte Kolbendosierpumpe mit Schrittantrieb, die mit einer Wirbelkammer bzw. einer mit Schikanen versehenen Zuleitung kombiniert ist. Durch drei nacheinander erfolgende schnelle Ansaugvorgänge von Verdünnungs- bzw. Reaktionsflüssigkeit, Probe und nochmals Verdünnungsflüssigkeit erfolgt eine sofortige homogene Durchmischung im Zylinder der Kolbendosierpumpe, wobei das Mischungsverhältnis in einem sehr großen Bereich variabel vorgebar ist. Ein Teil dieser derart aufbereiteten Probe wird danach über ein Zweiwegeventil zum Füllen der Probeschleife des Injektionsventils ausgestoßen.

Eine zweite Pumpe fördert kontinuierlich eine Trägerstromflüssigkeit. Durch eine 60°-Drehung des Injektionsventils, das unmittelbar vor dem Detektionssystem angeordnet ist, wird der Analyt in den Trägerstrom injiziert und unmittelbar darauf erfolgt die Indikation über den Detektor als Strom- bzw. Spannungsspeak. Währenddessen kann nach entsprechender Spülung der Kolbendosierpumpe eine neue Probe vorbereitet werden.

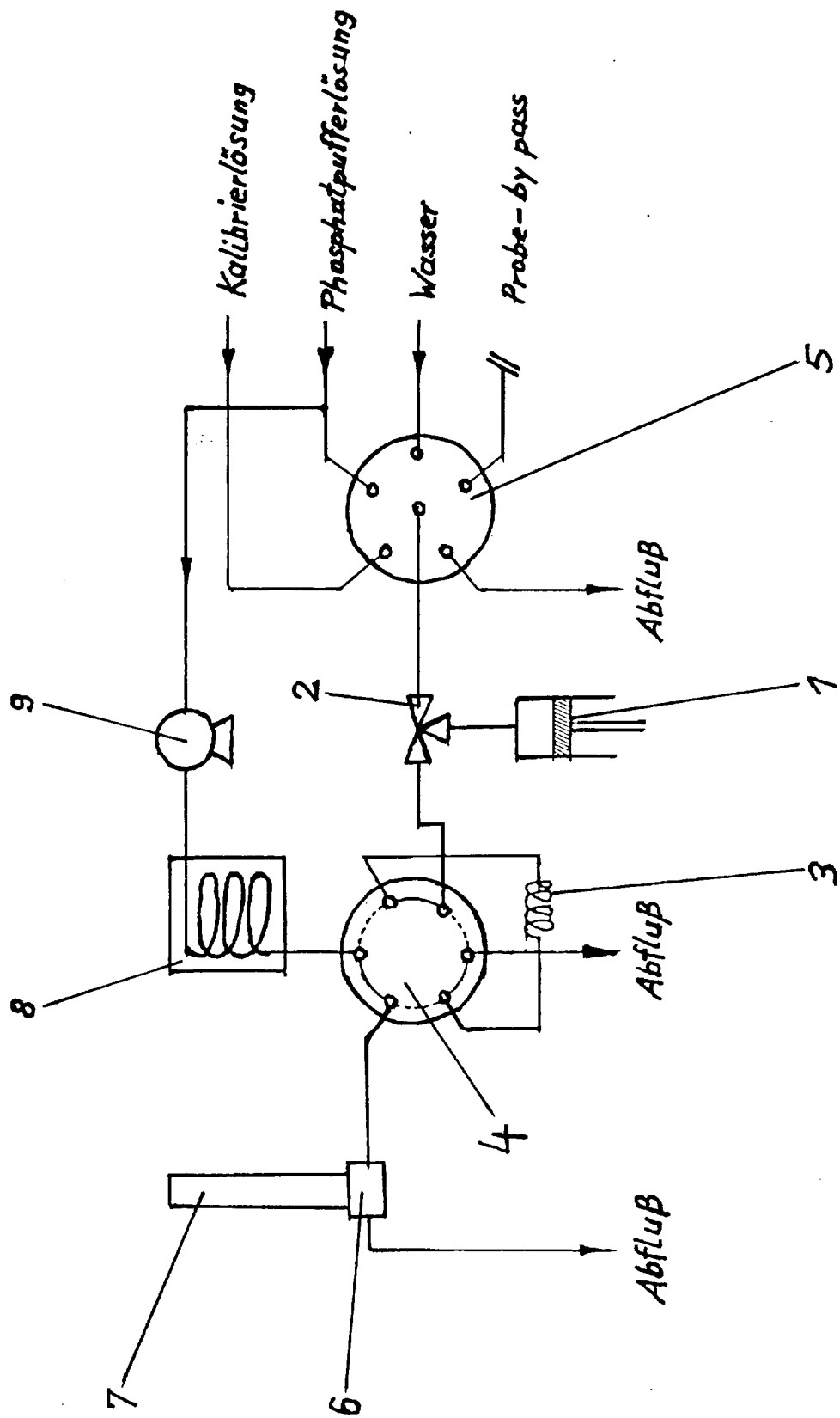
Bei hohen erforderlichen Meßfrequenzen können zwei zeitlich versetzt arbeitende Kolbendosierpumpen verwendet werden. Da nur ein kleiner Teil der im Zylinder der Pumpe aufbereiteten Probe für die Messung verwendet wird, sind prinzipiell mit einer Probenahme mehrere aufeinanderfolgende Messungen durchführbar, die die Sicherheit des Meßergebnisses erhöhen. Wesentlichste Vorteile dieser Anordnung sind jedoch, daß nur eine sehr geringe Totzeit zwischen der Entnahme der Probe und deren Ausmessung besteht und in einem vergleichsweise großen Bereich beliebige Verdünnungsverhältnisse einstellbar sind. Das heißt, neben der selbständigen Erstellung von Kalibrierkurven aus nur einer Stammlösung, kann während der Prozeßmessung eine Nachkalibrierung durchgeführt werden, die sich am letzten aktuellen Meßwert orientiert, und die Verdünnung der Probe so eingestellt werden, daß der optimale dynamische Meßbereich eines Detektionssystems bzw. eines Sensors stets eingehalten wird. Insofern ermöglicht diese Lösungsvariante eine größere Flexibilität gegenüber bisher praktizierten FIA-Systemen, insbesondere unter dem Aspekt der Prozeßkontrolle.

Die Erfindung soll im folgenden an einem Beispiel näher erläutert werden. Die Zeichnung zeigt ein Analysenteil eines Prozeßanalysators zur Glucosebestimmung.

Das Analysenteil eines Prozeßanalysators zur Glucosebestimmung besteht aus einer Kolbendosierpumpe 1 mit 2 ml Zylindervolumen, die über ein Zweiwegeventil 2 zum einen direkt mit der Probeschleife 3 eines 6-Port/3-Kanal-Schaltventils, das als Injektionsventil 4 dient, und zum anderen mit dem Zentralport eines 6-Port-Schaltventils 5 verbunden ist. Unmittelbar nach dem Injektionsventil 4 ist eine Durchflußmeßzelle 6 angeordnet, die eine amperometrische Enzymelektrode 7 als analytisches Element enthält. Weiterhin führt eine thermostatierte Zuleitung 8 zum Injektionsventil 4, die mit einer Schlauchpumpe 9 verbunden ist. Das 6-Port-Schaltventil 5 enthält um den Zentralport fünf anwählbare Einzelports, die Anschlüsse jeweils für Pufferlösung, eine Kalibrierlösung, destilliertes Wasser, einen Abfluß und einen Probepbypass aufweisen. Die Steuerung der Funktionselemente bzw. die Erfassung und Auswertung der Meßsignale erfolgt über eine separate Elektronikeneinheit.

Durch Ansteuerung der Kolbendosierpumpe 1 und entsprechender Ports des 6-Port-Schaltventils 5 werden in definierter Weise nacheinander Phosphatpufferlösung, eine glucosehaltige Probe und nochmals Phosphatpufferlösung 10 in den Zylinder der Kolbendosierpumpe 1 gesaugt und aufgrund der starken Turbulenzen, die durch die schnellen Ansaugvorgänge erzeugt werden, sofort homogen im Zylinder gemischt. Dieses Probe-Puffergemisch wird über das Zweiwegeventil 2 in die Probeschleife 3 des Injektionsventils 4 ausgestoßen. Die Schlauchpumpe 9 fördert kontinuierlich als Trägerflüssigkeit Phosphatpufferlösung, die zunächst zum Erreichen einer definierten Temperatur von 30 °C die thermostatierte Zuleitung 8 durchströmt und danach über das Injektionsventil 4 in die Durchflußmeßzelle gelangt. Durch eine 60°-Drehung des Injektionsventils 4 wird das in der Probeschleife 3 befindliche Probe-Puffergemisch in den Trägerstrom injiziert und gelangt sofort in die Durchflußmeßzelle. Beim Vorbeiströmen der verdünnten Probe an der Elektrode diffundiert die Glucose durch eine semipermeable Membran, mit der die darunter befindliche immobilisierte Glucoseoxidase auf der Elektrodenoberfläche fixiert ist, und wird durch das Enzym oxidiert. Der aus dieser Redoxreaktion resultierende Elektronentransfer verursacht einen Strompeak, dessen Höhe proportional zur Glucosekonzentration ist.

Währenddessen wird die Kolbendosierpumpe 1 nacheinander mit Wasser und Pufferlösung bei entsprechender Ansteuerung der jeweiligen Ports des 6-Port-Schaltventils 5 gespült, und danach kann ein neuer Meßzyklus beginnen. Der erforderliche Verdünnungsfaktor wird bei der Erstellung einer Kalibrierkurve nach Programm geändert und richtet sich während der Prozeßkontrolle oder bei Nachkalibrierung nach der aktuellen Glucosekonzentration im Prozeßmedium.



Figur