

TA 1367 ^{II}

september 1982

Instituut voor Cultuurtechniek en Waterhuishouding
Wageningen

NN31545.1367

**BIBLIOTHEEK
STARINGGEBOUW**

DE ANALYSE VAN NITRIET, NITRAAT EN BROMIDE
IN WATER MET BEHULP VAN VLOEISTOFCHROMATOGRAPHIE

J. Harmsen

Nota's van het Instituut zijn in principe interne communicatiemiddelen, dus geen officiële publikaties.

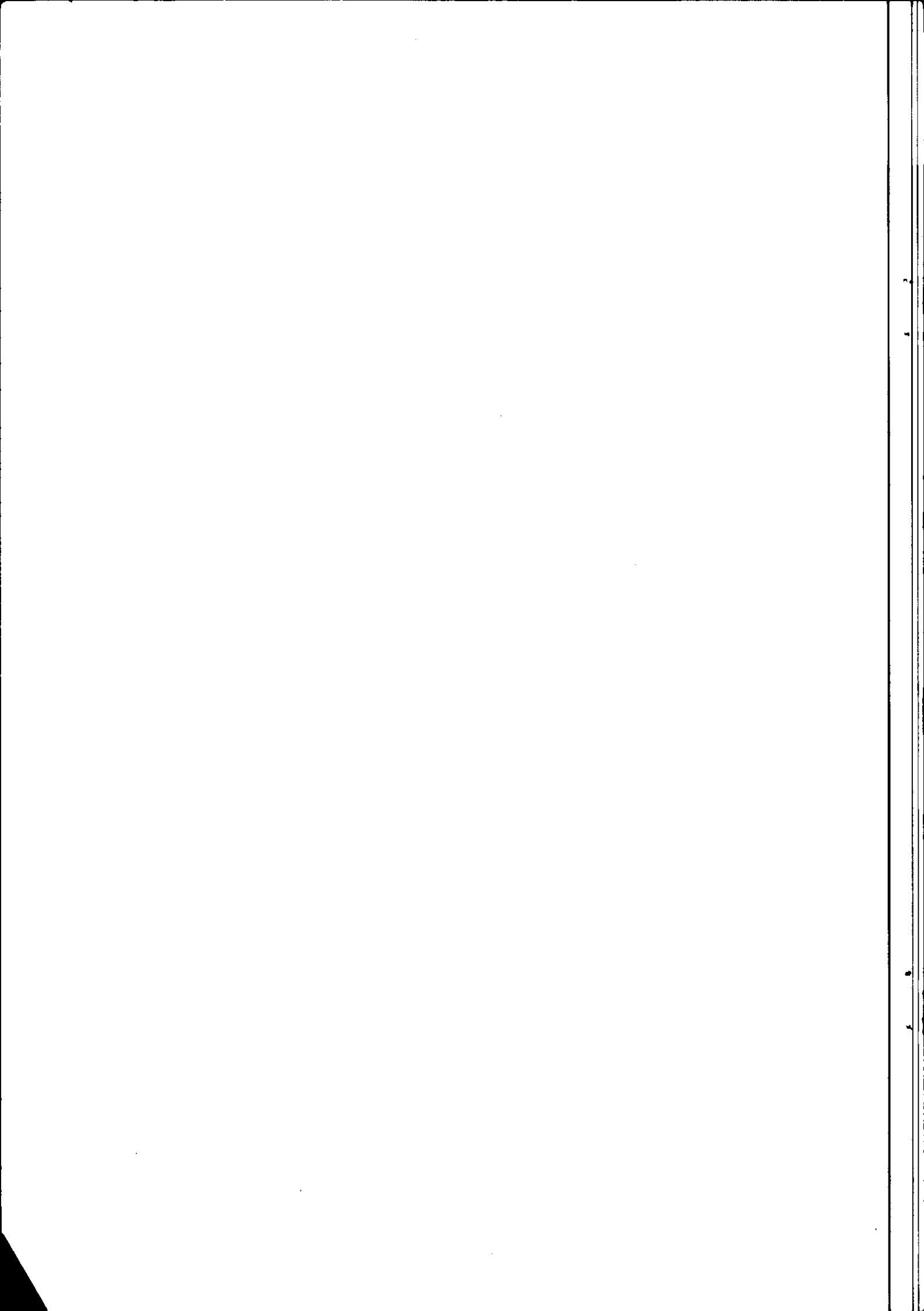
Hun inhoud varieert sterk en kan zowel betrekking hebben op een eenvoudige weergave van cijferreeksen, als op een concluderende discussie van onderzoeksresultaten. In de meeste gevallen zullen de conclusies echter van voorlopige aard zijn omdat het onderzoek nog niet is afgesloten.

Bepaalde nota's komen niet voor verspreiding buiten het Instituut in aanmerking

29 DEC. 1982

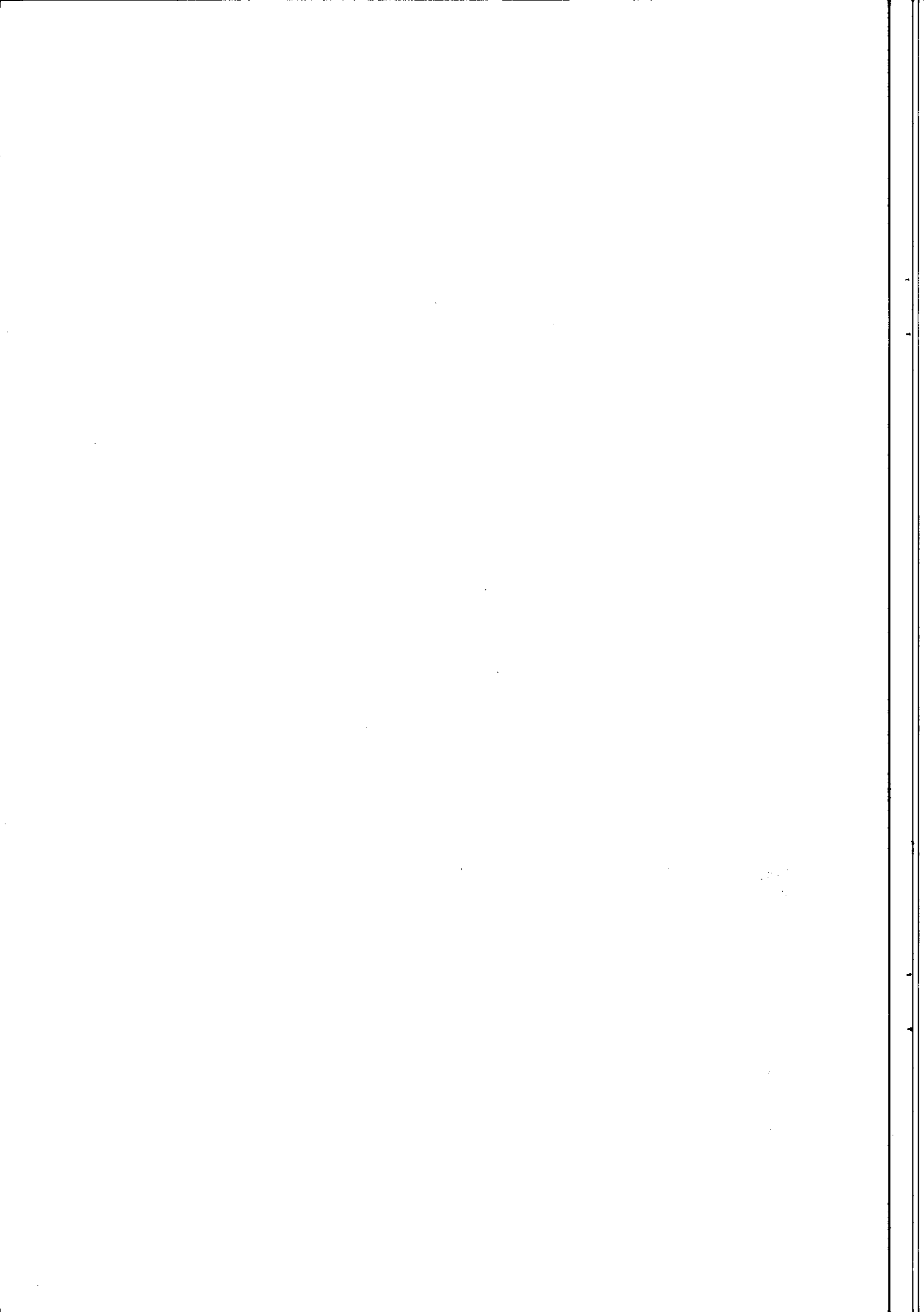


JSN175232-02



I N H O U D

	blz.
1. INLEIDING	1
2. METHODE EN MATERIALEN	1
2.1. De kolom	1
2.2. Het eluens	2
2.3. De monsters	2
2.4. De instrumenten	2
2.5. Programmering en instelling afzonderlijke componenten	5
2.6. Beveiligingen	8
3. DE ANALYSE VAN NITRIET EN NITRAAT	8
3.1. Scheiding en lineairiteit	8
3.2. Vergelijking met fotometrische bepaling van nitraat volgens NEN 3235	10
3.3. De integratie	11
4. DE ANALYSE VAN BROMIDE	13
4.1. Scheiding en lineairiteit	13
4.2. Vergelijking met bromide bepaald met behulp van een specifieke elektrode	15
5. SAMENVATTING	16
6. LITERATUUR	16
BIJLAGEN	18



1. INLEIDING

Bij de vloeistofchromatografie wordt steeds meer gebruik gemaakt van ionenwisselaars ter bepaling van de anionen in water. Een veel gebruikte detector is dan de geleidbaarheidsdetector. Gerritse (1979) en Luenberger e.a. (1980) hebben laten zien dat voor de analyse van nitraat en nitriet ook een UV-detektor goed bruikbaar is. Luenberger e.a. (1980) wisten naast nitraat en nitriet ook bromide te bepalen.

Daar vooral nitraat op het waterkwaliteitslaboratorium veel wordt bepaald en vloeistofchromatografie een snelle methode is, is overgegaan op het gebruik van de door Luenberger e.a. (1980) beschreven methode. Om het grote monster aanbod aan te kunnen is een automatisch systeem gebouwd.

2. METHODE EN MATERIALEN

2.1. De kolom

In de analytische kolom vindt de scheiding plaats en dit is daarom het belangrijkste onderdeel van het systeem. De gebruikte kolom is een μ -Bondapack-NH₂ kolom met als afmeting 25 cm x 4,6 mm ID (Waters, Etten-Leur). Dit is een poreuze silica met -NH₂ als functionele groep.

Ter bescherming van de analytische kolom is een voorkolom gebruikt. Deze kolom dient als barrière voor verontreinigingen. Het pakkingsmateriaal is bolvormig en iets groter dan in de analytische kolom (circa 40 μ m in plaats van 10 μ m) en kan daarom gemakkelijk zelf worden gepakt. Hierdoor is het mogelijk de voorkolom regelmatig te vervangen, waardoor de dure analytische kolom langer mee kan. De voorkolom is gepakt met BondapackTM Phenyl/Corasil (Waters, Etten-Leur) en heeft als afmetingen 5 cm x 4,6 mm ID.

2.2. H e t e l u e n s

Het eluens bevat 10 g KH_2PO_4 (pro analyse) per liter en is met fosforzuur op pH 3,00 gebracht. Hierna is het gefiltreerd over een membraanfilter van 0,45 μm (S en S OE67).

2.3. D e m o n s t e r s

De enige voorbereiding die de monsters nodig hebben is een filtratie ter verwijdering van vaste deeltjes. Wordt dit niet gedaan, dan bestaat er een grote kans dat het injectiegedeelte en de kolom verstopt raken of worden vernield.

2.4. D e i n s t r u m e n t e n

Om een groot aantal monsters aan te kunnen is het systeem zodanig gebouwd, dat het automatisch en zonder toezicht kan werken. Het systeem is omgebouwd uit vijf componenten, te weten:

- Varian 5000 vloeistofchromatograaf;
- Kipp Analytica monsterwisselaar voor 125 monsters;
- Varian Vista 401 data systeem;
- Varichrom detector;
- Een controle station.

De eerste 3 componenten zijn zodanig geschakeld dat ze elkaar starten (zie figuur 1 en bijlage 1). Het controle station dient voor het doorgeven van de verschillende signalen.

Het voordeel van het elkaar starten, is dat als één van de componenten uitvalt, het hele systeem stopt. Of het systeem goed functioneert is natuurlijk wel afhankelijk van een juiste programmering en instelling van de afzonderlijke componenten. Indien het laatste het geval is, dan kan de werking als volgt worden beschreven (zie ook flow schema figuur 2):

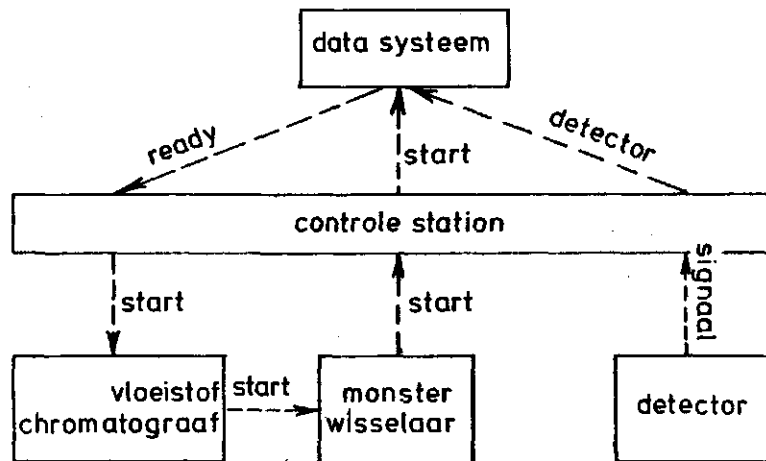


Fig. 1. Schematische opbouw chromatografiesysteem

- Alle componenten zijn in de beginpositie gezet.
- Het datasysteem wordt geladen met het juiste programma en geeft een "ready" signaal. Het lampje "ready" op het controle station gaat branden.
- Het "ready" signaal wordt door het controle station omgezet in een start signaal voor het programma van de vloeistofchromatograaf.
- In het programma van de vloeistofchromatograaf is een start signaal opgenomen voor de monsterwisselaar.
- De monsterwisselaar injecteert het eerste monster en geeft direct na de injectie een start signaal voor het integratieprogramma van het datasysteem en het volgende monsterpotje wordt klaargezet.
- Het datasysteem neemt het chromatogram op. Dit wordt tijdelijk opgeslagen op een floppy disk en aan het einde van de analyse inclusief de basislijn weergegeven op de plotter.
- Berekening worden uitgevoerd en de resultaten worden op de plotter weergegeven en tevens bewaard op de floppy disk.
- De vloeistofchromatograaf heeft intussen de monsterwisselaar weer in de begin positie gezet.
- Na het plotten zoekt het datasysteem het volgende monster op in de lijst (is geprogrammeerd) en geeft weer een "ready" signaal.

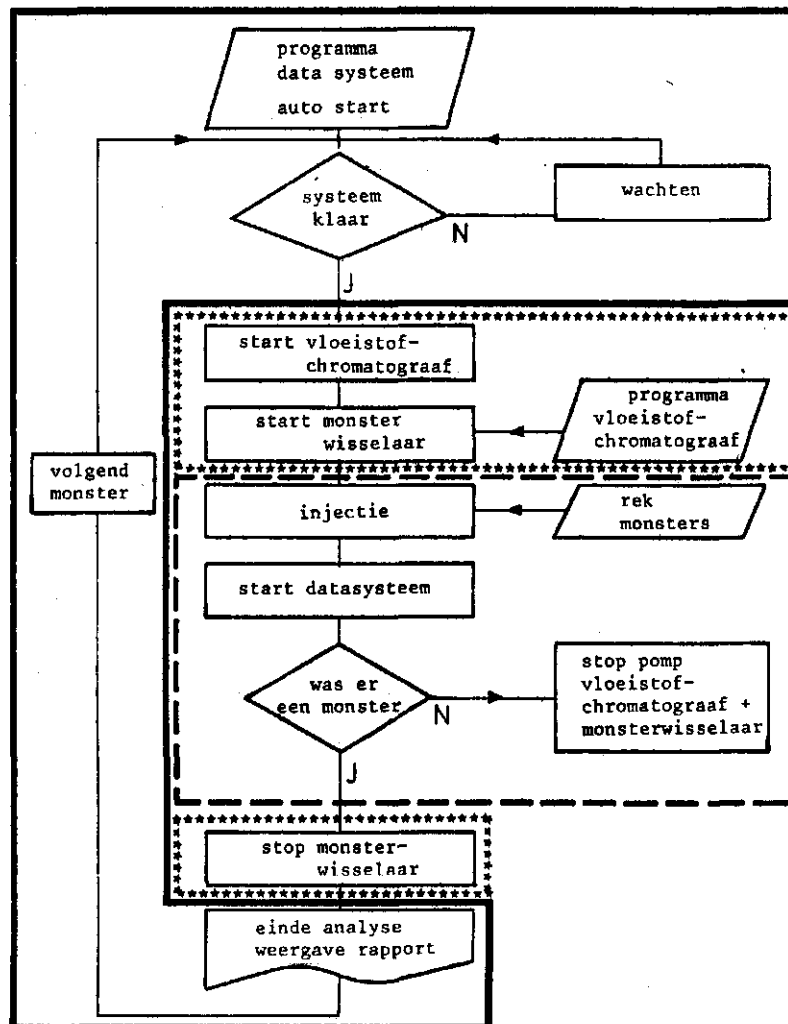


Fig. 2. Flowschema chromatografiesysteem

In de volgende hoofdstukken zullen nu verder de afzonderlijke componenten worden behandeld (zie ook werkwijze bijlage 3).

2.5. Programmering en instelling afzonderlijke componenten

2.5.1. De vloeistofchromatograaf

De belangrijkste functie van de vloeistofchromatograaf is het pompen van het eluens door de kolom. Hiernaast kan het apparaat op bepaalde tijdstippen via een relais andere apparaten sturen. Het programma luidt als volgt:

Time	Code	Value	Betekenis
.0	FLOW	1,5	pompsnelheid 1,5 ml mm ⁻¹
.0	%	100	} het eluens is 100% A
.0	RSVR	A	
.0	EVNT	0	geen stuurrelais bekrachtigd
.1	EVNT	1	relais 1 bekrachtig = start monsterwisselaar
.2	EVNT	0	
3.0	EVNT	2	relais 2 bekrachtig = stop monsterwisselaar
3.1	EVNT	0	

De stuurfuncties bestaan uit het starten en het stoppen van de monsterwisselaar. Met stoppen wordt hier bedoeld dat de monsterwisselaar weer in z'n uitgangspositie komt.

2.5.2. De monsterwisselaar

In de monsterwisselaar moeten de monsters in de juiste volgorde worden geplaatst. Zodra de monsterwisselaar een startsignaal krijgt, wordt een monster geïnjecteerd, dat wil zeggen dat een loop van 20 µl wordt gevuld. De "flush time" is ingesteld op 6 sec., waardoor voor het spoelen en vullen iets minder dan 1 ml wordt gebruikt. Na de flush time wordt de inhoud van de loop geïnjecteerd. Gelijktijdig wordt het programma van de integrator gestart.

De "run time" moet op 99 min. staan en heeft geen enkele functie omdat de monsterwisselaar weer door de vloeistofchromatograaf in de uitgangspositie wordt gezet.

Wordt geen monster aangetroffen, bijvoorbeeld na het laatste monster of door een defect, dan geeft de monsterwisselaar een signaal waardoor de vloeistofchromatograaf wordt gestopt.

2.5.3. Het datasysteem

Het datasysteem moet gegevens bevatten over de wijze waarop het detektorsignaal moet worden verwerkt. Deze gegevens worden een methode genoemd. De analyse van nitraat en nitriet gaat met behulp van methode NO₃ en bromide met behulp van BR. De juiste betekenis van alle parameters staat beschreven in de handleiding van het instrument. Hier in het kort de betekenis van de verschillende secties. De methode is volledig weergegeven in bijlage 3.

Sectie 1. Basisgegevens over wijze van berekenen, monster, en wijze van weergeven chromatogram en rapport.

Sectie 2. Gegevens over de wijze van integreren van de pieken.

Sectie 3. Gegevens over retentietijden en calibratiefactoren van de te meten stoffen.

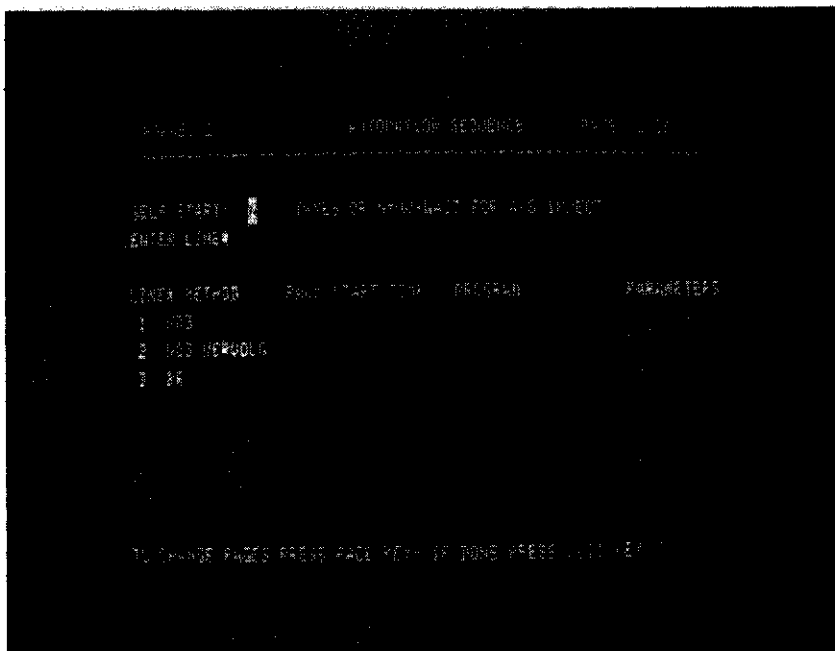
Sectie 4, 5, 6, 8 en 10. Niet in gebruik

Sectie 7. Gegevens over opslag chromatogram en berekende resultaten.

Sectie 9. Bevat de lijst van monsters.

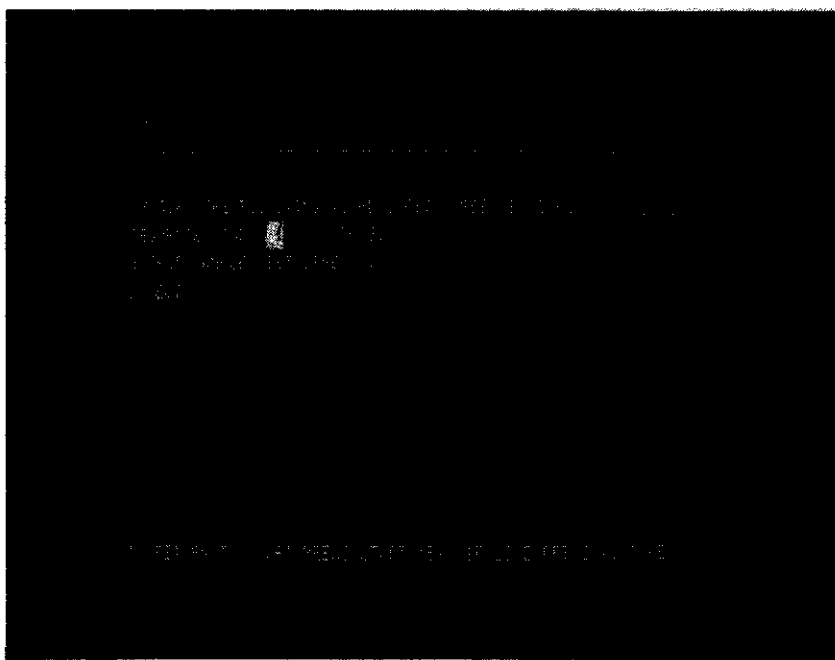
Sectie 11. Bevat de basislijn (zie ook hoofdstuk 3.3.).

Om automatisch te kunnen werken is het van belang dat sectie 9 is ingevuld. Hiernaast moet in AM de methode zijn ingevuld, waarmee automatische gewerkt kan worden. Hierin staat het volgende:



Er is een methode NO₃ VERVOLG (zie bijlage 2) in gebruik omdat de monsterlijst maar 99 monsters kan bevatten en de monsterwisselaar 125. Als er 99 monsters zijn geanalyseerd wordt automatisch omgeschakeld naar methode NO₃ VERVOLG, die gelijk is aan methode NO₃, alleen bevat de monsterlijst de nummers 100 tot en met 125.

Starten van het systeem gaat via AS (auto start). Op deze bladzijde moet worden ingevuld met welke methode van de AM bladzijde moet worden gewerkt en met welk nummer van de monsterlijst. Er wordt in enkelvoud gewerkt.



2.5.4. De detector

In de detector wordt het chromatogram geregistreerd. Nitraat, nitriet en bromide absorberen allen licht van 210 nm, vandaar dat het chromatogram ook bij deze golflengte wordt geregistreerd. De preciese instelling van het instrument staat vermeld in de werkwijze (bijlage 3).

2.5.5. Het controle station

Op het controle station, ingebouwd in de vloeistofchromatograaf, is te zien of het datasysteem "ready" is of dat de analyse loopt. Verder kan de keus worden gemaakt of het datasysteem de vloeistofchromatograaf start of andersom en of de monsterwisselaar de vloeistofchromatograaf na afloop stopt. Bij de hier beschreven methoden dient het datasysteem de vloeistofchromatograaf te starten en de monsterwisselaar de vloeistofchromatograaf na afloop te stoppen.

2.6. B e v e i l i g i n g e n

Om automatisch en zonder toezicht te kunnen werken dienen een aantal beveiligingen te worden ingebouwd. Dit zijn de volgende:

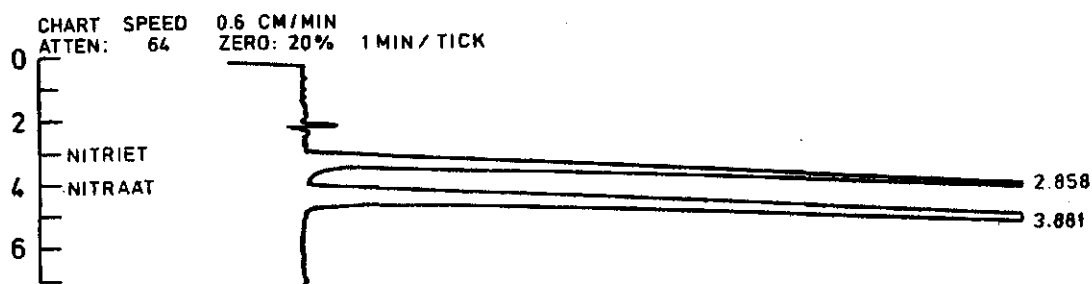
- Het systeem is in een driehoek geschakeld (zie figuur 1). Valt één component uit, dan wordt de volgende niet gestart.
- De vloeistofchromatograaf kan worden beveiligd tegen te hoge en te lage druk. In het programma is de maximale druk ingesteld op 250 atm. Komt de druk hierboven ten gevolge van een verstopping dan stopt de vloeistofchromatograaf. De minimale druk is ingesteld op 10 atm. Als het eluens op is, of het aanvoerfilter verstopt, dan zal lucht worden opgepompt en zakt de druk tot beneden 10 atm. De vloeistofchromatograaf stopt dan.
- Elk tiende monster dient een standaard te zijn. Dit geeft de mogelijkheid de detector te controleren op eventueel verloop of uitvalen. Is er iets fout gegaan bij de injectie, dan geven de standaarden herkenningspunten in de reeks.
- De gemeten en berekende gegevens worden op een floppy disk bewaard. Als er iets fout is gegaan met het plotten dan kunnen ze via RF weer worden opgevraagd.

3. DE ANALYSE VAN NITRIET EN NITRAAT

3.1. S c h e i d i n g e n l i n e a i r i t e i t

Met de μ -Bondapack-NH₂ kolom is de scheiding van nitriet en nitraat goed. Dit is te zien in figuur 3 waarin het chromatogram staat van een

standaard die zowel 10 mg NO₂-N als 10 mg NO₃-N bevat. Bij een nieuwe kolom is de scheiding zelfs beter dan weergegeven in het chromatogram. In het begin gaat de kwaliteit echter snel achteruit, waarna het scheidend vermogen stabiel wordt.



Title: nitraat en nitriet mbv HPLC 1:32 13 jun 1982

Channel no: 2 sample: st 10 MG-N/L method: NO₃

Peak No	Peak name	result mg N/L	Time (min)	Area counts	Sep code
1	nitriet	9.9722	2.858	770447	BV
2	nitraat	10.1696	3.881	2300170	VV

Totals 20.1418 3070620

Divisor: 20.0000 Multiplier: 1.00000

Saved file: N276

Fig. 3. Chromatogram nitriet en nitraat

In figuur 3 is eveneens het rapport van de analyse weergegeven. De verschillende "kretten" in het rapport spreken over het algemeen voor zich. Ze staan bovendien zeer duidelijk beschreven in de handleiding van het datasysteem.

De methode is rechtlijnig voor het concentratiegebied 0-50 mg.l⁻¹N (zie figuur 4). Hierboven buigt de ijklijn sterk af en zal verdund moeten worden. Dit sterke afbuigen komt onder andere doordat het uitgangssignaal van de detector dan te groot wordt voor het datasysteem. De ondergrens van de methode is circa 0,1 mg.l⁻¹N. Moeten lagere gehalten worden gemeten dan kan gebruik worden gemaakt van een grotere sampleloop, bijvoorbeeld 50 µl.

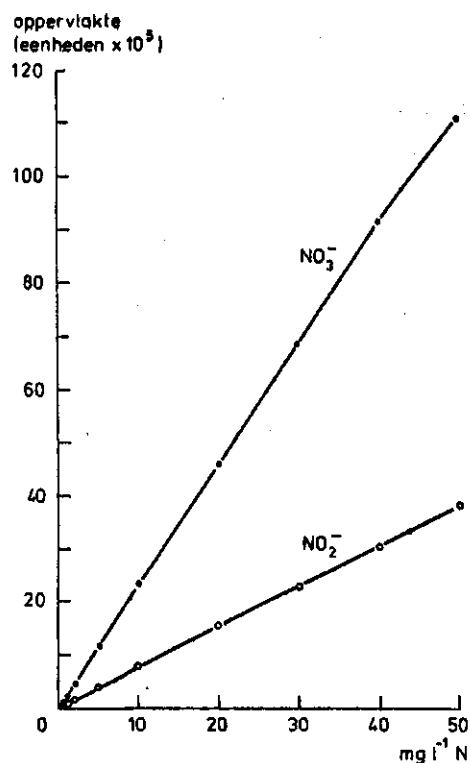


Fig. 4. IJklijn nitriet en nitraat bepaald met behulp van HPLC

3.2. Vergelijking met fotometrische bepaling van nitraat volgens NEN 3235

De bepaling van nitraat is gecontroleerd door een serie monsters zowel met de HPLC methode als met de fotometrische methoden volgens NEN 3235 te onderzoeken. De resultaten staan weergegeven in figuur 5.

Uit figuur 5 blijkt dat er een goede overeenkomst bestaat tussen beide methoden, daar alle analyses op een acceptabele afstand van de lijn met richtingscoëfficiënt 1 liggen.

Bij de controle kwam wel een fout in de NEN methode tot uiting daar een aantal monsters geanalyseerd volgens de NEN in eerste instantie 10 tot 20% lagere gehalten gaven. De monsters hadden een pH tussen 6 en 7. Vermoedelijk is tijdens de indamprocedure de pH gezakt waardoor nitraat verdween. Toevoegen van 1 druppel 10n NaOH aan het monster zorgde ervoor dat er goede resultaten werden verkregen. In de nieuwste NEN norm voor nitraat (NEN 6440) die recentelijk is verschenen is re-

kening gehouden met deze onvolkomenheid, doordat de monsters eerst op een pH tussen 7 en 9 moeten worden gebracht.

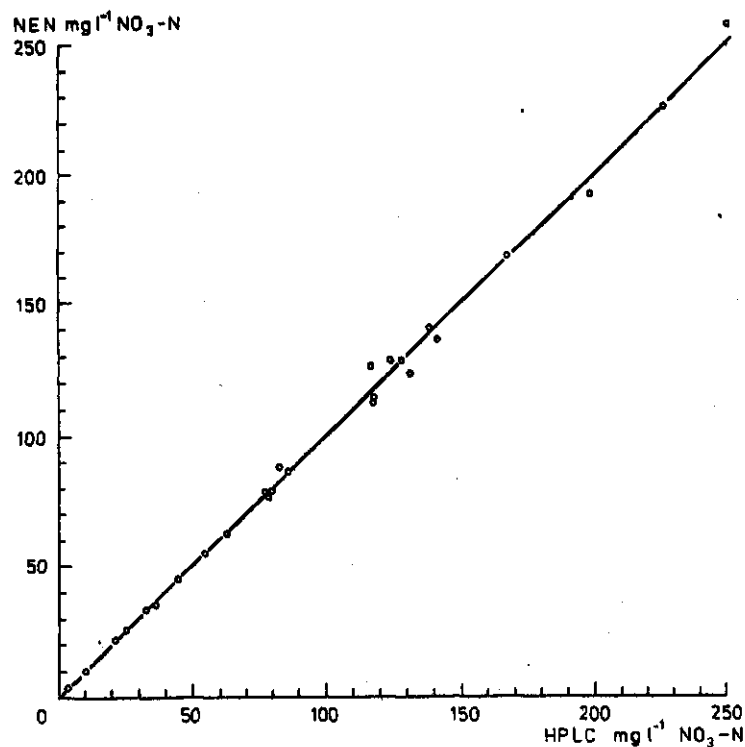


Fig. 5. Relatie tussen $\text{NO}_3\text{-N}$ bepaald volgens de HPLC methode en volgens de NEN methode

3.3. De integratie

Voor een juiste analyse is het van belang dat de integratie van het piekoppervlak goed wordt uitgevoerd. De integratie is te controleren door te kijken of het datasysteem de basislijn in het chromatogram goed heeft getrokken. In het oorspronkelijke chromatogram komt echter een dal voor, net tussen de nitriet en de nitraat piek (figuur 6A). Dit dal is moeilijk in het integratieprogramma (sectie 2 van de methode) in te bouwen, waardoor incidenteel verkeerde integraties voorkwamen (figuur 6B).

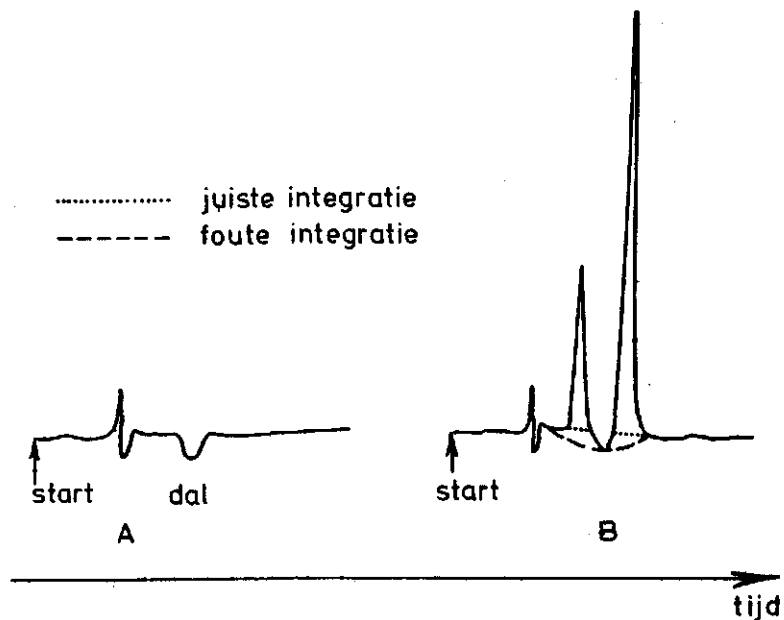


Fig. 6. Dal in chromatogram. A. injectie blanko. B. gevolgen voor de integratie

Het dal kan echter wel uit het chromatogram worden gehaald door met een blanko monster de basislijn op te nemen. Deze gegevens worden opgeslagen in sectie 11 van de methode en in het vervolg afgetrokken van de opgenomen chromatogrammen. Zodoende wordt een rechte basislijn verkregen. Soms moet nog iets met de hand worden bijgecorrigeerd daar het datasysteem slechts 1 keer per 6 seconden een punt in het geheugen opslaat, waardoor net het diepste punt van het dal gemist kan zijn. Dit opnemen van de basislijn is slechts incidenteel nodig, daar de basislijn weinig verandert en een eenmaal opgeslagen lijn enkele maanden bruikbaar is.

4. DE ANALYSE VAN BROMIDE

4.1. S c h e i d i n g e n l i n e a i r i t e i t

Bromide komt in de tuinbouwgebieden veel voor in het water, doordat hier gebruik wordt gemaakt van methylbromide voor de ontsmetting van grond. Methylbromide wordt in de bodem omgezet in bromide.

Bromide kan met dezelfde HPLC methode worden bepaald als nitriet en nitraat. Het geeft een piek tussen deze twee componenten (figuur 7). Daar met UV (210 nm) wordt gedetekteerd storen chloride en sulfaat die meestal in grote overmaat aanwezig zijn niet. Chloride en sulfaat absorberen immers geen licht van 210 nm.

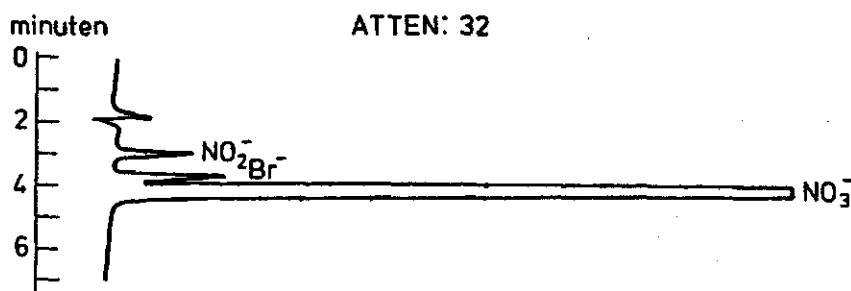


Fig. 7. Chromatogram bromide (5 mg) in aanwezigheid van nitriet en nitraat

Zoals in het chromatogram (figuur 7) te zien is ligt de bromidepiek vlak bij de nitraatpiek. Alleen bij een nieuwe kolom is de scheiding goed. In principe moet het mogelijk zijn de scheiding te verbeteren door gebruik te maken van een andere kolom of eluens. In de toekomst zal hier aandacht aan worden besteed. Door de onvoldoende scheiding is de integratie van de bromidepiek in aanwezigheid van nitraat moeilijk. Dit wordt vooral moeilijk doordat de bromidepiek een staart heeft. Deze staart wordt bij de integratie bij nitraat opgeteld waardoor het bromidegehalte te laag wordt. Betere resultaten worden verkregen als in plaats van het oppervlak de piekhoogte wordt gemeten. Dit is te zien in figuur 8 waar het effect van de hoeveelheid nitraat op zowel het oppervlak als de piekhoogte van de bromidepiek is weer-

gegeven. Duidelijk is te zien dat het nitraatgehalte geen invloed heeft op de piekhoogte.

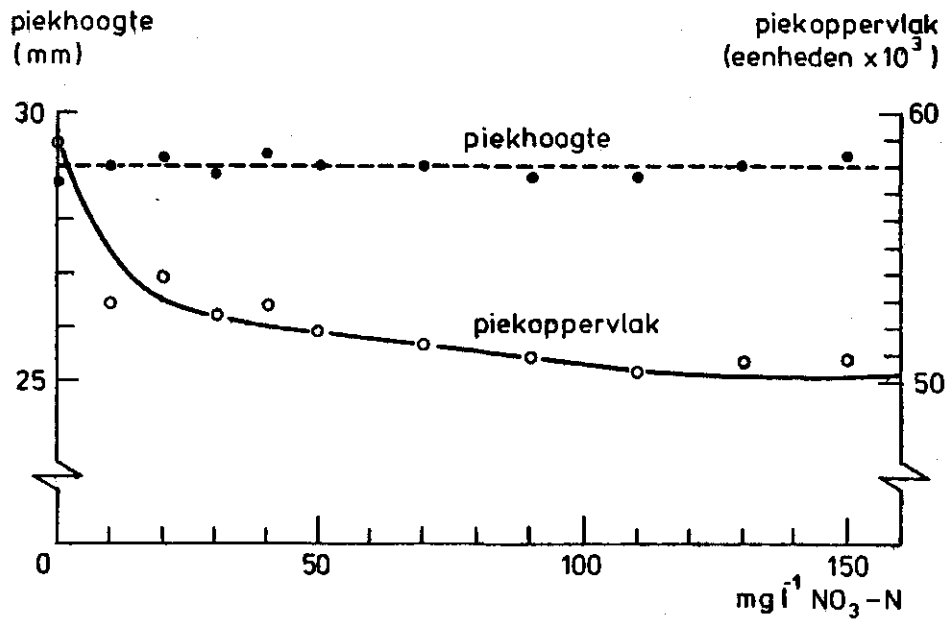


Fig. 8. Effect hoeveelheid nitraat op piekoppervlak en piekhoogte van de bromidepiek

In tegenstelling tot het piekoppervlak reageert de piekhoogte niet lineair op de hoeveelheid bromide (figuur 9). Het is daarom noodzakelijk voor een serie analyses een ijklijn op te stellen over het volledige meetgebied. De ondergrens van de methode is circa $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$ en de bovengrens 50 mg.l^{-1} , omdat boven de 50 mg.l^{-1} de ijkcurve sterk gaat vervlakken.

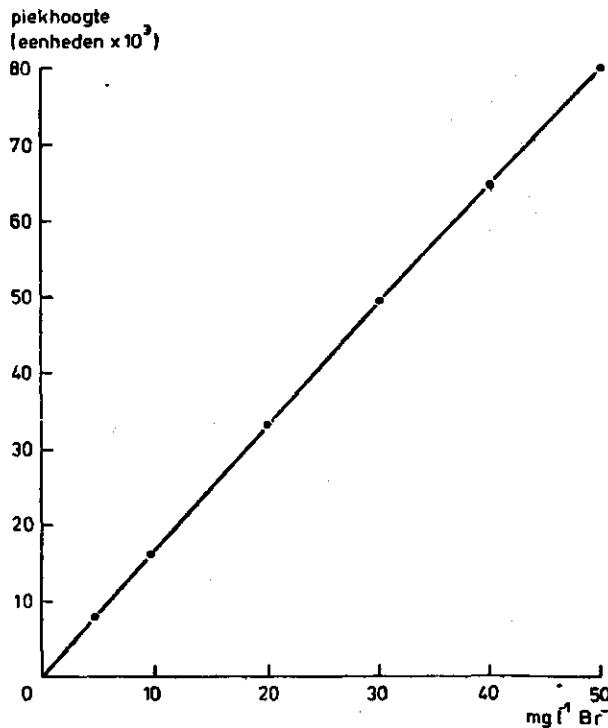


Fig. 9. IJklijn bromide bepaald met behulp van HPLC

4.2. Vergelijking met bromide bepaald met behulp van een specifieke elektrode

Een aantal monsters zijn zowel met de HPLC methode als met een specifieke elektrode geanalyseerd. Deze laatste analyses zijn gebeurd op het laboratorium van het Proefstation Naaldwijk (VAN DIJK, 1982). De resultaten zijn vermeld in tabel 1. Naast de gehalten is ook de verhouding tussen het chloride- en bromidegehalte vermeld (beiden in mg.l^{-1}).

Uit tabel 1 blijkt dat de overeenkomst tussen beide methoden afgezien van enkele uitschieters goed is. De uitschieters komen voor bij lage bromidegehalten. Het blijkt dat hier de verhouding Cl^-/Br^- groot is. Van de specifieke elektrode is bekend dat chloride stoort. Bij de meting is er in Naaldwijk ook rekening mee gehouden. Toch is het wel aan te nemen dat bij de uitschieters de specifieke elektrode te hoge gehalten heeft gegeven ten gevolge van de grote Cl^-/Br^- verhouding.

Tabel 1. Vergelijking bromide bepaald met behulp van HPLC en met de specifieke elektrode

No. monster	HPLC	Specifieke elektrode	Cl ⁻ /Br ⁻
1	7,59 mg.l ⁻¹	7,36 mg.l ⁻¹	1
2	6,41 mg.l ⁻¹	6,24 mg.l ⁻¹	22
3	3,76 mg.l ⁻¹	4,00 mg.l ⁻¹	15
4	1,95 mg.l ⁻¹	3,52 mg.l ⁻¹	77
5	0,48 ng.l ⁻¹	1,12 mg.l ⁻¹	285
6	3,19 mg.l ⁻¹	3,28 mg.l ⁻¹	47
7	4,41 mg.l ⁻¹	4,40 mg.l ⁻¹	4
8	0,54 mg.l ⁻¹	0,96 mg.l ⁻¹	81
9	3,46 mg.l ⁻¹	3,52 mg.l ⁻¹	45
10	4,48 mg.l ⁻¹	4,56 mg.l ⁻¹	43

5. SAMENVATTING

In deze nota is een analysemethode beschreven om nitriet, nitraat en bromide met behulp van vloeistofchromatografie (HPLC) te bepalen. Er is gebruik gemaakt van een ionenwisselaar als kolom. De methode blijkt goed te voldoen en de analysetijd is slechts 7 minuten per monster. Om een groot aantal monsters aan te kunnen is een automatisch systeem gebouwd dat 125 monsters per keer aan kan. De opbouw en programmering van dit systeem is eveneens in deze nota beschreven.

6. LITERATUUR

- DIJK, P.A. VAN, 1982. Persoonlijke gegevens.
- GERRITSE, R.G., 1979. Rapid simultaneous determination of nitrate and nitrite by high-performance liquid chromatography using ultraviolet detection. *J. Chromatogr.*, 171, 527-529.

- LUENBERGER, U., R. GAUCH, K. RIEDER en E. BAUMGARTNER, 1980. Determination of nitrate and bromide in Foodstuffs by high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr*, 202, 461-468.
- NEN 3235. Onderzoekingsmethoden voor afvalwater Nederlands Normalisatie Instituut, Delft.
- NEN 6440. Fotometrische bepaling van nitraat Nederlands Normalisatie Instituut, Delft.

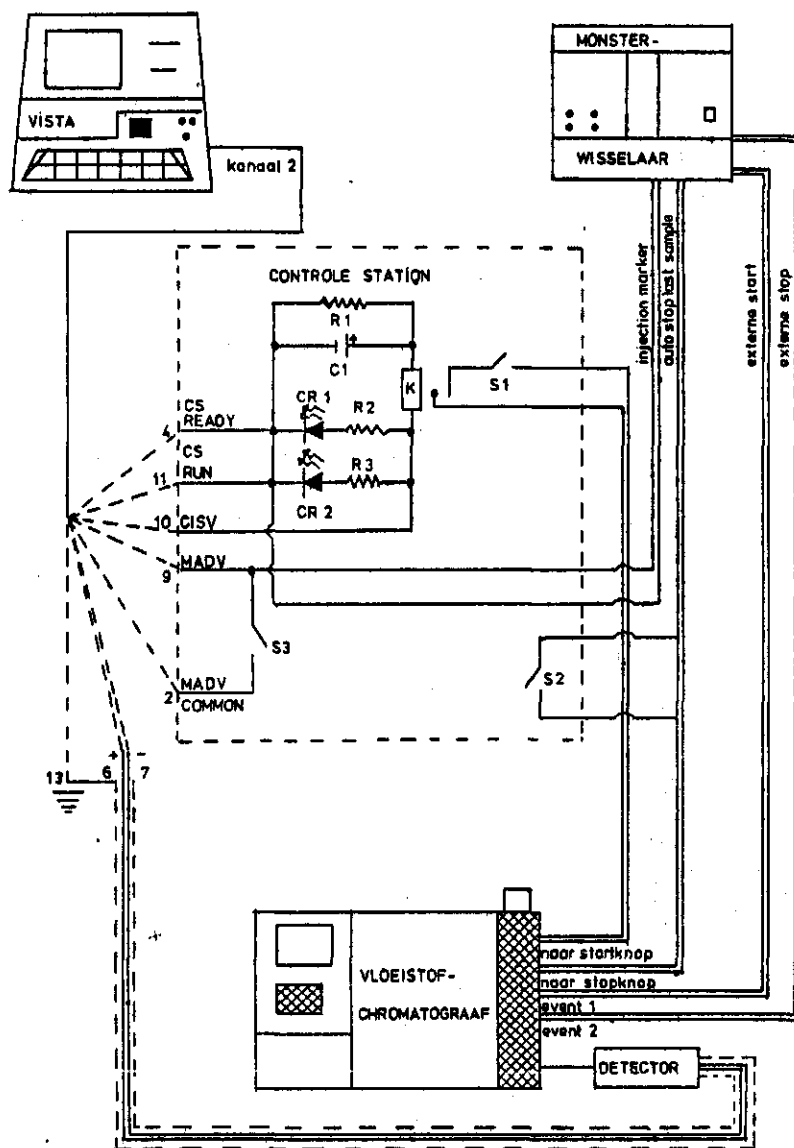


Fig.

Elektronische schema chromatografie systeem

$R_1 = 8,2 \text{ k}, 1/4 \text{ W } 5\%$

$R_2 = R_3 = 120 \text{ ohm } 1/4 \text{ W } 5\%$

$C_1 = \text{condensator } 250 \text{ } \mu\text{F } 50\text{V}$

$CR_1 = CR_2 = \text{LED}$

$K = \text{Reed Relay SPDT } 100\Omega, 5\text{V DIL V23100 - V4305 - C011}$

$S_1 = \text{schakelaar LCstart Vista (dicht) of Vista start LC (open)}$

S₂ = schakelaar Monsterwisselaar stopt LC ja (dicht) of nee (open)
S₃ = schakelaar Advance

METHODEN DATASYSTEEM

SECTION 1: BASIC

PAGE 1

ANALYSIS PARAMETERS

CHANNEL: 2
 CALCULATION: ES
 BREAKHT: A
 STOP TIME: 7.00
 NUMS EXPECTED PKS: 75
 EQUILIBRATION TIME: 0
 UNRETAINED PK TIME: 0.00
 UNIDENT PK FACTOR: 0.000000
 SLICE WIDTH: 10

PAGE 2

SAMPLE PARAMETERS

RUN TYPE: C
 SAMPLE ID: 2=ST 10MG/L
 DIVISOR: 20.00000
 AMT STD: 20.00000
 MULTPLR: 1.000000

PAGE 3

REPORT INSTRUCTIONS

WHERE TO REPORT: L
 COPIES: 1
 TITLE: NITRAAT EN NITRIET MBV HPLC
 FORMAT: N
 DECIMAL PLACE: 4
 RESULT UNITS: MG N/L
 REPORT UNIDENT PKS: Y
 REPORT INSTRUMENT CONDITIONS: N

PAGE 4

PLOT INSTRUCTIONS

PLOT: N
 ZERO OFFSET: 20
 ANNOTATION
 RETENTION TIME: Y
 PLOT CONTROL: Y
 TIME TICKS: Y
 TIME EVENTS: N
 PK START/END: N

PAGE 5

CHART SPEED

PAGES OR CM/MIN: C
 INIT VALUE: 0.6

PAGE 6

PLOT ATTEN

INIT PLOT ATTEN: 64

SECTION 2: TIME EVENTS

PAGE 1

LINE#	TIME	EVENT	VALUE
1	0.00	PR	3000
2	0.00	SN	1
3	0.00	TX	5.0
4	0.00	WI	6
5	0.00	II	2.20
6	0.00	SB	5
7	2.20	PR	10
8	3.50	NI	3
9	4.50	SB	5
10	7.00	II	7.00

PAGE 1
 STD PK#: 0
 RELATIVE RETEN PK#: 0
 RESOLUTION PK#: 0
 RESOLUTION MINIMUM: 0.0
 FACT%: 10.0
 IDENTIFICATION TIME WINDOWS +/-
 REF
 %: 0
 MIN: 0.30
 NON REF
 %: 0
 MIN: 0.40

PAGE 2

PK#	TIME	NAME	FACTOR	AMOUNT	REF	GR#	MUST LO	MUST HI
1	2.66	*NITRIET	2.547290	10.00000			0.000000	0.000000
2	3.41	*NITRAAT	0.853683	10.00000			0.000000	0.000000

SECTION 7: POST RUN
 PAGE 1
 FILE NAME: N
 SAVE INSTRUCTIONS
 TYPE: TAR
 WHERE TO SAVE: L
 TRANSMIT/RELOT INSTRUCTIONS
 TRANSMIT RAW DATA: N
 RELOT WITH BASELINES: Y
 RAW DATA LOCATION: L
 TRANSMIT REPORT: N

PAGE 2
 METHOD LINKING INSTRUCTIONS
 METHOD:
 LINK CALC RESULTS: N
 PROGRAM EXECUTION
 PROGRAM:
 PARAMETERS:
 RESERVE PRINTER: Y

SECTION 9: SAMPLE LIST+A/S CONTROL
 PAGE 1
 AUTOSAMPLER CONTROL
 INJECT/CALIBRATION: 1
 INJECT/ANALYSIS: 1
 SAMP VOLUME: 1
 ISTA AUTOSAMPLER ONLY
 A/S MODE: MR
 PURGE PULSES: 2
 INJECT TIME: 0.03

vervolg bijlage 2

row #	SHOCK (180)	Time	SCALE 10	AMPLITUDE	PHASE	TRIGGER
1		0	1=ST 10MG/L	20.00000	20.00000	1.000000
2		1	2=ST 10MG/L			
3		2				
4		3				
5		4				
6		5				
7		6				
8		7				
9		8				
10		9				
11		10	10=ST 10MG/L			
12		11				
13		12				
14		13				
15		14				
16		15				
17		16				
18		17				
19		18				
20		19				
21		20	20=ST 10MG/L			
22		21				
23		22				
24		23				
25		24				
26		25				
27		26				
28		27				
29		28				
30		29				
31		30	30=ST 10 MG/L			
32		31				
33		32				
34		33				
35		34				
36		35				
37		36				
38		37				
39		38				
40		39				
41		40	40=ST 10MG/L			
42		41				
43		42				
44		43				
45		44				
46		45				
47		46				
48		47				
49		48				
50		49				
51		50	50=ST 10MG/L			
52		51				
53		52				
54		53				
55		54				
56		55				
57		56				
58		57				
59		58				
60		59				
61		60	60=ST 10MG/L			
62		61				
63		62				
64		63				

65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99

1
60
66
67
68
69
70=ST 10MG/KL
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80=ST 10MG-1
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90=ST 10MG/KL
91
92
93
94
95
96
97
98
99

vervolg bijlage 2

LINE#	TIME	AMPLITUDE
1	0.0	76
2	0.2	10
3	0.4	-105
4	0.6	-241
5	0.8	-246
6	1.0	-171
7	1.2	-322
8	1.4	-432
9	1.6	-461
10	1.8	-439
11	2.0	-1168
12	2.2	-643
13	2.3	-626
14	2.4	-648
15	2.5	-653
16	2.6	-591
17	2.7	-1073
18	2.8	-2500
19	2.9	-1450
20	3.0	-738
21	3.1	-674
22	3.2	-655
23	3.3	-653
24	3.4	-652
25	3.5	-636
26	3.6	-680
27	3.7	-630
28	3.8	-577
29	3.9	-603
30	4.0	-611
31	4.1	-630
32	4.2	-623
33	4.3	-633
34	4.4	-664
35	4.5	-637
36	4.6	-638
37	4.7	-670
38	4.8	-711
39	4.9	-708
40	5.0	-662
41	5.1	-708
42	5.2	-687
43	5.3	-740
44	5.4	-734
45	5.5	-758
46	5.6	-779
47	5.7	-797
48	5.8	-790
49	5.9	-804

Single channel method: NO₃ vervolg

Alle secties gelijk aan methode NO₃, behalve pg. 2 van sectie 9.

page 2

SAMP	RACK/VIAL	TYPE	SAMPLE ID	DIVISOR	AMT STD	MLTFLR
1			100=ST 10			
2			101			
3			102			
4			103			
5			104			
6			105			
7			106			
8			107			
9			108			
10			109			
11			110=ST 10			
12			111			
13			112			
14			113			
15			114			
16			115			
17			116			
18			117			
19			118			
20			119			
21			120=ST 10			
22			121			
23			122			
24			123			
25			124			
26			125			

Single channel method: BR

Grotendeels gelijk aan methode NO₃ behalve,

SECTION 1: BASIC

PAGE 1

CALCULATION: A%

AREA/HT: H

PAGE 3

TITLE: BROMIDE MBV HPLC

RESULT UNITS: -

SECTION 3: PEAK TABLE

vervolg bijlage 2

PAGE 2

PK	TIME	NAME	FACTOR	AMOUNT REF GR	MUST LO	MUST HI
1	2.65	*NITRIET	0.000000	10.00000	0.000000	0.000000
2	3.15	*BROMIDE	0.000000	1.000000	0.000000	0.000000
3	3.41	*NITRAAT	0.000000	10.00000	0.000000	0.000000

SECTION 9: SAMPLE LIST+A/S CONTROL

PAGE 2

SAMP	RACK/VIAL	TYPE	SAMPLE ID	DIVISOR	AMT STD	MLTPLR
1		A	1=ST 10MG/L	20.00000	20.00000	1.000000
2			2			
3			3			

WERKWIJZE BEPALING NITRIET EN NITRAAT

(Voor analyse bromide lees BR in plaats van NO₃)

D e t e k t o r

- Zet de detector een halve dag van te voren aan (schakelaar achterkant).
- Instelling Wavelength 210 nm
Band width 8 nm
knop op UV
sample cell position op "front"
time constant op "slow"
absorbance range .05

Zet voordat gestart wordt de detector op nul met behulp van een recorder en coarse (grof) en fine (fijn). Er kan pas worden gestart met de analyses als de detector stabiel is.

V l o e i s t o f c h r o m a t o g r a a f

- Zet de vloeistofchromatograaf (en de pomp) 1 à 2 uur van te voren aan als volgt.
 - Power op "on".
 - Controleer of programma 8 in gebruik is (druk DSPL in).
- Zoniet dan reset time 0 PRGM 8 enter
- Controleer of eluens nitraat aan reservoir A verbonden is.
 - Controleer of de juiste kolom aangesloten is.
 - Het is beter dat de pomp niet ineens met volle snelheid begint te pompen ga daarom als volgt te werk type in

time 0 flow 0 . 5 enter pump na circa ½ minuut

time 0 flow 1 enter en weer na een ½ minuut

time 0 flow 1 . 5 enter

vervolg bijlage 3

C o n t r o l e s t a t i o n

- Linker schakelaar op Vista start LC.
- Rechter schakelaar op ja.

M o n s t e r w i s s e l a a r

- Power aan.
- Instelling: start/stop knop in midden positie. Brandt één van beide lampjes zet de knop dan even op stop en vervolgens in midden positie
flush time op 6 sec
run time op 99 sec
knop op 1 x

D a t a s y s t e e m

- Zet knop onder beeldscherm op "on".
- Zorg ervoor dat er een lege disk in de onderste disk drive zit (controle type in en).
- Type in en vervolgens de juiste tijd en datum.
- Controleer of er voldoende papier is, 1 analyse vergt ongeveer 3/4 vel.

C o n t r o l e g e h e l e s y s t e e m

- Wacht tot de detektor stabiel is en zet hem op nul.
- Plaats een potje met standaard 10 mg.l^{-1} in de le positie van de carroussel en het gat naar de geleider.
- Druk de rode knop op de monsterwisselaar in. Hierdoor gaat de arm naar links. Duw vervolgens de arm weer terug in de uitgangspositie.

B i j D a t a s y s t e e m

- Type in start **M R** **enter**
 en op de vragen method **N O** **3** **enter**
 monitors **N** **enter**
 run type **A** **enter**
 sample id **S T I O M G** **enter**
 exec

- De analyse start nu.

C o n t r o l e v a n r e t e n t i e t i j d e n

start **M M** **enter**
 method **N O** **3** **enter**
 section **3** **enter**
 Page
 Fwd

wijzig eventueel de retentietijden

1 **enter** **nieuwe tijd** **enter** **next**
 line
2 **enter** **nieuwe tijd** **enter** **next**
 line

Bij meer dan 99 monsters controleer de tijden eveneens in methode
 NO₃ VERVOLG

S t a r t h e l e s y s t e e m

- Vul de carroussel. De eerste 2 zijn standaarden van 10 mg.l⁻¹ en
 ook op de plaatsen 10; 20; 30 enz. komt een standaard 10 mg.l⁻¹*

*Bij bromide is het eerste monster een standaard van 10 mg.l⁻¹ en
 verder de monster 10, 20, 30 enz. De serie moet een ijkreeks bevat-
 ten van het te meten concentratiegebied.

vervolg bijlage 3

- Noteer de nummers en de namen van de monsters.
- Laat het eerste monster in het gat naar de geleider zakken en laat de arm naar links gaan en duw hem weer terug.
- Controleer of de detektor nog op nul staat.
- Bij Datasysteem

<code>start</code>	<code>A S enter</code>	
channel	<code>2 enter</code>	(de LC zit op kanaal 2)
sequence line	<code>1 enter</code>	(sequence line 1 = NO ₃)
method sample list	<code>1 enter</code>	(dit is 1e monster)
inject	<code>1 enter</code>	(er wordt 1 maal geïnjecteerd)

U i t z e t t e n

Datasysteem `start S 0 enter`

channel `2 enter`

Knop onder beeldscherm op stand by
vloeistofchromatograaf

`reset time 0 flow 1 enter`

na ½ minuut `time 0 flow 0.5 enter`

na ½ minuut `time 0 flow 0 enter`

power uit

M o n s t e r w i s s e l a a r e n d e t e k t o r

- Power uit.