

Arbeidsbeskrivelse
Institutt for husdyr-og akvakulturvitenskap, NMBU

Metodenavn: CHNS (DUMAS / total-nitrogen)

BIOVIT-nr: Arb1039

1. Innledning

Simultan CHNS analyse krever høytemperatur-forbrenning i et oksygenrikt miljø og er basert på den klassiske Pregl-Dumas metoden. Prøvene forbrennes ved hjelp av oksygen i et forbrenningskammer ($t = 1150^{\circ}\text{C}$), og forbrenningsproduktene føres deretter gjennom et reduksjonsrør ($t = 850^{\circ}\text{C}$) av en inert bæregass (helium), før de separeres på 3 ulike kolonner. CHNS detekteres som henholdsvis CO_2 , H_2O , N_2 og S_2 med en varmetrådsdetektor (TCD).

2. Reagenser

Standard: Sulfanilamid

Art.nr: B15.00-0062 (elementar)

N: 16,25 % C: 41,81 % H: 4,65 % S: 18,62 %

Kontroller:

- BBOT (CRM- certified reference material)

N: 6,54 % C: 72,59 % H: 6,06 % S: 7,43 %

- Fôrkontroll (Til diverse fôrprøver)

- Soyakontroll (Til væskeprøver)

3. Risikovurdering

Det er høy temperatur (1150°C) og høyt trykk inne i instrumentet. Når forbrenningsrør og reduksjonsrør skal byttes må temperatur skrus ned til 200 grader og gassene skrus av. Bruk varmebeskyttende hansker og løsne klypene forsiktig. Husk at glassbruen under rørene er veldig varm. Det gjelder også inngangen til detektoren. Når tørkerørene skal byttes holder det å skru av gassene. (Dette skjer automatisk om man setter systemet i «maintenance mode»).

4. Utstyr

- Tinnkapsler - faste prøver: 0,12 mL, 8*5 mm Art.nr: 05 003 394 (elementar)
- Tinnkapsler - væskeprøver: 0,05 mL, 3,5*9*0,1 mm Art.nr: B03 951 619 (elementar)
 - væskeprøver: 0,1 mL, Art.nr: S05 000 481 (elementar)
- Mettler toledo XP6 mikro-vekt
- Kapselpresse for væskeprøver
- Pinsetter
- Vario El Cube elementanalysator

5. Spesielle merknader

- Nye rør må pakkes etter ca 500 prøver. Når reduksjonsrøret er brukt opp blir N% for høy. Dette oppdages på sulfanilamid-prøven.

BIOVIT/NMBU						ARB:
Utarbeidet Elin Follaug Johnsen	Godkjent Hanne Kolsrud Hustoft	Gjelder fra 21.08.2017	Revisjon 03.2020	Erstatter 06.2018	Dokumentnavn Arb 1039 CHNS.docx	Side 1 av 4

- Sjekk lekkasje ved skifte av rør, spesielt rundt tørkerørene. Dette oppdager ikke instrumentet selv ved «leak check»
- Om «daily factor» for N% og C% avviker fra normal-området på 0,9-1,1 må instrumentet kalibreres
- H% er noe ustabil og gis bare ut etter samtale med rekvirent
- For å kunne detektere lave nivåer av S% må en annen detektor benyttes (IR). Vår detektor gir akseptable resultater ned til ca 0,2 % S.
- For væskeprøver må blank-verdier bestemmes med både tom kapsel, kapsel fylt med luft og kapsel fylt med vann (eventuelt rekvirents egen blankprøve). Nedre deteksjonsgrense for N% i væskeprøver er 0,05 %.

6. Prøvemateriale

Analysen kan gjøres på stort sett alle typer prøver; tørre prøver (så finmalt som mulig), rå prøver og væskeprøver. Det veies inn små mengder prøve (5 mg – faste prøver, 20 µL væskeprøver) så det er viktig at prøven er homogen.

7. Arbeidsbeskrivelse

Starte opp instrument

- Vekk instrumentet → *Options – settings – Sleep/wake up – wake up now*
- Huk av ”sleeping deactivated”
- Vent til temperaturene er blitt 1150°C og 850°C (går fra turkis til grønn)
- Sjekk at gasshastigheten er ca lik for He og TCD (ca 230 mL/min)

Om disse ikke blir like er det en lekkasje i systemet og dette må fikses før analysen kan gjøres (se manual - feilsøking)

Start med å lage følgende analysesekvens:

nr	Weight	name	Method
1	1	RunIn	Blank without O
2	1	RunIn	Blank without O
3	1	RunIn	Blank without O
4	1	RunIn	Blank with O
5	1	RunIn	Blank with O
6	1	Blnk	Blank with O
7	1	Blnk	Blank with O
8		Sulfanilamide	5mg90s
9		CRM	5mg90s
10		Kontroll	5mg90s
11		Rekv XX – nr 1	5mg90s
12		Rekv XX – nr 2	5mg90s
13		Osv osv	

BIOVIT/NMBU						ARB:
Utarbeidet Elin Follaug Johnsen	Godkjent Hanne Kolsrud Hustoft	Gjelder fra 21.08.2017	Revisjon 03.2020	Erstatter 06.2018	Dokumentnavn Arb 1039 CHNS.docx	Side 2 av 4

Etter hver tiende prøve skal det være en sulfanilamide for å kunne korrigere for endringer i for eksempel luftfuktighet, (daily factor = daglig kalibrering) etterfulgt av en CRM for å kontrollere at kalibreringen er tilfredstillende.

«5mg90s» er standardmetoden for faste prøver. Om prøven har lav egenvekt (liten tetthet) kan det veies inn mer. Da må metoden endres til for eksempel 10mg120s.

«20mg150s» er standardmetoden for væskeprøver. Endre hvis vekten avviker mye fra 20 mg.

Husk å lagre sekvens (ÅÅ.MM.DD_rekvXX), og lagre jevnlig da det ikke er noe auto-lagring.

Innveiling av prøver

Tørre prøver veies i tinnfoliekapsel (0,12 mL)

- Tarer først vekt med tom kapsel
- Vei inn ca 5 mg (3-6 mg ved bruk av standardmetode)
- Overfør vekt til PC
- Brett sammen kapsel og legg i merket boks

Væske prøver pipetteres i tinnkapsel (0,05 mL eller 0,1 mL) beregnet på væskeprøver

- Tarer først vekt med tom kapsel
- Sett kapsel i passende adapter i kapselpressen
- Pipetter 20 µL over i kapselen (volum kan tilpasses type væske)
- Forsegl kapsel så raskt som mulig (flush eventuelt med O₂ først for å fjerne luft)
- *Hvis det ikke flushes med O₂ er det viktig å analysere flere blanke kapsler for å kunne korrigere for bidrag fra luft.*
- Vei kapsel og overfør vekt til PC
- Legg kapsel i merket boks
- *Kapselpresse-trykket kan justeres ved behov (for løst = prøven fordamper, for hardt = det går hull på kapsel)*
 - o sjekk ved å pipettere Aceton i kapsel, og se om vekta forblir stabil over tid

Analyse av prøver

- Trykk på: *System – Carousel position-* huk av «*all samples removed*» -*position:80-* ok
- autosampler starter på hull 1
- Overfør prøver fra boks til autosampler.
 - De 7 første hullene skal være tomme (RunIns og blanke prøver)
 - Sulfanilamide-prøven skal være i hull 8, CRM i hull 9 osv.
- Når alle prøvene er lagt i auto-samplers: trykk på lang grønn knapp i verktøylinja (start auto analysis)
- Alternativt kan en og en prøve analyseres ved å trykke på «start a single analysis»

Sjekk fortløpende:

- blank prøve: alle areal-verdier er under 100
- Sulfanilamide: alle «factor»-verdier er mellom 0,9 og 1,1
 - o Om H factor er litt høyere skyldes det fukt i systemet (kan akseptere opptil 1,4)
 - o Om N factor er høyere er reduksjonsrøret brukt opp = pakk nye rør
- CRM og Kontroll-prøven ligger innenfor det tillatte intervallet (Se kontroll-ark)

BIOVIT/NMBU						ARB:
Utarbeidet Elin Follaug Johnsen	Godkjent Hanne Kolsrud Hustoft	Gjelder fra 21.08.2017	Revisjon 03.2020	Erstatter 06.2018	Dokumentnavn Arb 1039 CHNS.docx	Side 3 av 4

Stopp

- Sett instrumentet i sovemodus → *Options – settings – Sleep/wake up – sleep*
- Om instrumentet skal fortsette å gå over natt: huk av for «*sleep after end of samples*»

8. Utregning

- Korrigere for blank verdi:
 - Math – Blank values – calculate- YES (sekvensielt)
- Korrigere for «daily factor»:
 - Math – Factor – YES (sekvensielt)
- om beregningene skal gjøres manuelt: Options – Settings – Calculations

BIOVIT/NMBU						ARB:
Utarbeidet Elin Follaug Johnsen	Godkjent Hanne Kolsrud Hustoft	Gjelder fra 21.08.2017	Revisjon 03.2020	Erstatter 06.2018	Dokumentnavn Arb 1039 CHNS.docx	Side 4 av 4