

02

PTL-NUS

manual de
procedimientos técnicos
y buenas prácticas

manual of
technical procedures
and good practices

02



manual de
procedimientos técnicos
y buenas prácticas

CRÉDITOS

EDITORES:

Plataforma Oceánica de Canarias (PLOCAN)

AUTORES:

Patricia López, Matthew D. Patey y M^a José Rueda

Copyright © 2012 Plataforma Oceánica de Canarias (PLOCAN).

Depósito Legal: GC 1071-2012

ISBN: 84-695-6496-X
978-84-695-6496-7

CONTENTS

ÍNDICE

ES

Procedimiento de recogida y tratamiento de las muestras	8
Material necesario	8
Reactivos y estándares	8
Reactivos para la determinación de nitratos + nitritos	8
Reactivos para la determinación de fosfatos	9
Reactivos para la determinación de silicatos	10
Patrones terciarios	10
Limpieza del material	11
Toma de muestras, conservación y almacenamiento	11
Mediciones utilizando el Skalar San+	12
Hacer la tabla de datos de muestras	13
Ajuste de detectores y comprobación de la línea base	18
Método	20
Análisis	21
Procesado de datos	22
Referencias	29

EN

Sample collection and storage, and preparation for analysis	8
Required equipment	8
Standards and reagents	8
Reagents for the determination of nitrate + nitrite	8
Reagents for the determination of phosphate	9
Reagents for the determination of silicate	10
Working standards	10
Cleaning of equipment	11
Sample collection, preservation and storage	11
Operation of the Skalar San+	12
Complete the sample data table	13
Adjusting the detector and checking the baseline	18
Method	20
Analysis	21
Data processing	22
References	29

PTL-NUS:

DETERMINACIÓN DE NUTRIENTES EN AGUA DE MAR.

(Método utilizando un analizador de flujo,
Skalar San+)

DETERMINATION OF NUTRIENTS IN SEAWATER.

(Method using a continuous flow autoanalyser,
Skalar San+)



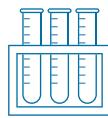
1

PROCEDIMIENTO DE RECOGIDA Y TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Para la determinación de nutrientes se siguen los métodos Skalar, métodos dados por Hansen & Koroleff (1999) y los protocolos del Joint Global Ocean Flux Study (JGOFS).

SAMPLE COLLECTION AND STORAGE, AND PREPARATION FOR ANALYSIS

This analysis follows methods given by Skalar and Hansen & Koroleff (1999) and protocols established by the Joint Global Ocean Flux Study (JGOFS).



MATERIAL NECESARIO

- Pipetas de precisión de 0.1, 1 y 10 mL con puntas desechables.
- Pipetas de vidrio de 10, 20 y 50 mL.
- Vasos de precipitado de 500mL
- Matraces aforados de 1L.
- Botes de plástico HDPE de 120mL, de 1L y 2L.
- Probeta de 100mL
- Mangueras silicona flexibles para la captación de muestra de la botella Niskin, con diámetro no mayor de 4 mm.
- Balanza analítica, con precisión de 0,1mg.
- Balanza granataria de hasta 2Kg máximo y con precisión de 0,01g
- Cucharillas de plástico.

REQUIRED EQUIPMENT:

- 0.1, 1 and 10 mL precision pipettes with disposable tips.
- 10, 20 and 50 mL glass pipettes.
- 500 mL beakers
- 1L volumetric flasks.
- 120 mL, 1 L and 2 L HDPE bottles.
- 100mL measuring cylinder
- Flexible silicone tubing with an internal diameter not greater than 4 mm for sample collection from Niskin bottles.
- Analytical balance with a precision of 0.1 mg.
- Precision balance with capacity of up to 2 kg and precision of 0.01 g.
- Plastic spatulas.



REACTIVOS Y ESTÁNDARES

Los reactivos preparados se guardarán en botes de plástico HDPE limpiados previamente (a no ser que se especifique el material en algún caso). Para su preparación se utilizarán reactivos de calidad alta y principalmente de la casa Merck o Sigma Aldrich.

Como reactivo común a todos los métodos solo tenemos el agua de limpieza, que se prepara disolviendo 30g de cloruro sódico muy puro en 2L de agua MQ.

REACTIVOS PARA LA DETERMINACIÓN DE NITRATOS+NITRITOS

1. **Solución Buffer:** disolver 50g de cloruro de amonio en 800mL de agua bidestilada (MQ). Se ajusta el pH hasta 8.2 con la solución de hidróxido de amonio al 25% (se irá añadiendo poco a poco y midiendo el pH, se empezará con 1mL de amonio y luego se irá ajustando la cantidad que vamos añadiendo a medida que nos

STANDARDS AND REAGENTS

Prepared reagents are stored in HDPE plastic bottles that have been previously cleaned, unless specified otherwise. High quality reagents from suppliers such as Merck or Sigma Aldrich should be used.

The rinse solution is common to all methods and is prepared by dissolving 30 g of high-purity sodium chloride in 2 L of ultrapure Milli-Q water (MQ).

REAGENTS FOR THE DETERMINATION OF NITRATE + NITRITE

1. **Buffer Solution:** Dissolve 50 g ammonium chloride in 800 mL ultrapure water (MQ). Adjust the pH to 8.2 with a 25%w/v solution of ammonium hydroxide (adding the solution gradually while monitoring the pH - starting with 1 mL quantities and adjusting the volume accordingly as the desired pH is approached). Once the pH is correct, dilute the solution to 1 L and add 3 mL Brij-35 (30%w/v).

- acercaamos al valor de pH deseado). Una vez se alcance el pH, enrasamos hasta 1L de volumen total y añadimos 3mL de Brij 35(30%). La solución es estable por 1 semana y se debe guardar a 4°C cuando no es utilizada.
2. **Reactivos de color:** Diluir 150mL de ácido fosfórico en unos 700mL de agua MQ, añadir el ácido con cuidado. Posteriormente añadimos 10g de Sulfanilamida y 0.5g de N-(1-naftil) etilendiamina diclorhidrato. Una vez disuelto se enrasa a 1L de volumen total. La solución se guarda en una botella de vidrio oscuro a 4°C, es estable durante 2 semanas.
 3. **Patrones de nitratos:** Para obtener el patrón primario de 10000 µM de nitratos, en un matraz aforado diluir 1.011g de nitrato sódico hasta 1L de agua MQ. Luego tomamos 100mL y enrasamos en otro matraz hasta un volumen total de 1L y tendríamos el patrón secundario de 1000 µM.
 4. **Patrones de nitrito:** para obtener un patrón primario de 10000 µM de nitritos diluimos 0.9g de nitrito sódico en un matraz aforado y enrasamos hasta 1L. El reactivo tiene que ser de la mayor pureza posible y no demasiado viejo. Para el trabajo y comprobación del estado de la columna de Cd, se preparará un patrón de nitrito 4 µM, añadiendo 0.4 mL del patrón primario y enrasando hasta 1L en un matraz aforado.
- REACTIVOS PARA LA DETERMINACIÓN DE FOSFATOS**
1. **Solución de molibdato amónico:** disolver en 800mL de agua MQ 0.23g de tartrato de antimonio y potasio. Luego añadir con mucho cuidado y removiendo 69.4 mL de ácido sulfúrico (97%). Una vez esté más frío se añaden 6g de molibdato amónico y se disuelven y enrasa en un matraz aforado hasta 1L. Añadir 2 mL de FFD6. La solución es estable por 5 días y se debe guardar a 4°C cuando no es utilizada. No se debe utilizar cucharilla metálica en la pesada del molibdato amónico.
 2. **Solución de ácido ascórbico:** Disolver 11g de ácido ascórbico en 800 mL de agua MQ, añadir 60mL de acetona, enrasar a 1L en el matraz aforado y añadir 2mL de FFD6. La solución es estable por 5 días y se debe guardar a 4°C cuando no es utilizada.
 3. **Patrones de fosfatos:** Para preparar el patrón primario de 10000 µM de fosfato, se disuelven 1.361g de ortofosfato potásico dihidrogenado y se enrasa en un matraz aforado a 1L. De este patrón primario se toman 100 mL y se lleva a 1L en un matraz aforado y obtendríamos el patrón secundario de 1000 µM.

- The solution is stable for 1 week and should be stored at 4°C when not in use.
2. **Colour Reagent:** Dilute 150 mL phosphoric acid in about 700 mL MQ water, adding the acid to the water with caution. Subsequently add 10 g sulfanilamide and 0.5 g N-(1-naphthyl)ethylenediamine dihydrochloride (NED). Once dissolved, dilute to 1 L with MQ. The solution should be stored in an amber glass bottle at 4°C and is stable for up to 2 weeks.
 3. **Nitrate standards:** To prepare the primary standard (10,000 µmol.L⁻¹ nitrate), dissolve 1.011 g sodium nitrate in a 1 L volumetric flask and make up to the line with MQ water. Subsequently take 100 mL of this solution and dilute to 1 L in a second volumetric flask to prepare the secondary standard (1,000 µmol.L⁻¹ nitrate).
 4. **Nitrite standards:** To prepare the primary standard (10,000 µmol.L⁻¹ nitrite), dissolve 0.9g sodium nitrite in a 1 L volumetric flask and make up to the line with MQ water. The reagent must be of the highest possible purity and not too old. To check the functioning of the Cd column, prepare a 4 µmol.L⁻¹ nitrite standard by diluting 0.4 mL of the primary standard to 1 L in a volumetric flask. °C when not in use. Metal spatulas should not be used to weigh ammonium molybdate.
- REAGENTS FOR THE DETERMINATION OF PHOSPHATE**
1. **Ammonium Molybdate Solution:** dissolve 0.23 g potassium ammonium tartrate in 800 mL MQ water. Then, carefully and while stirring, add 69.4 mL sulphuric acid (97%). Once this has cooled, 6 g ammonium molybdate is added and dissolved and the mixture made up to the line in a 1 L volumetric flask. Add 2 mL FFD6 surfactant to the reagent. This solution is stable for 5 days and should be kept at 4
 2. **Ascorbic Acid Solution:** Dissolve 11g ascorbic acid in 800 mL MQ water, then add 60 mL acetone and dilute to 1 L in a volumetric flask. Add 2 mL FFD6 surfactant to this reagent. The solution is stable for 5 days and should be stored at 4 °C when not in use.
 3. **Phosphate standards:** To prepare the primary standard (10,000 µmol.L⁻¹ phosphate), dissolve 1.361 g potassium dihydrogen orthophosphate in a 1 L volumetric flask and make up to the line with MQ water. Subsequently take 100 mL of this solution and dilute to 1 L in a second volumetric flask to prepare the secondary standard (1,000 µmol.L⁻¹ phosphate).

REACTIVOS PARA LA DETERMINACIÓN DE SILICATOS

1. **Solución de ácido sulfúrico:** añadir 2mL de ácido sulfúrico (97%) en unos 800mL de agua MQ y luego enrasar a 1L en un matraz aforado. La solución es estable por 1 semana y se debe guardar a 4°C cuando no es utilizada.
2. **Solución de molibdato amónico:** disolver 20g de molibdato amónico en unos 800 mL de agua MQ y llevar a 1L en un matraz aforado. La solución es estable por 1 día. No se debe utilizar cucharilla metálica en la pesada del molibdato amónico.
3. **Solución de ácido oxálico:** disolver 44g de ácido oxálico en unos 800mL y posteriormente llevar a 1L en un matraz aforado. La solución es estable por 1 mes y se debe guardar a 4°C cuando no es utilizada.

REAGENTS FOR THE DETERMINATION OF SILICATE

1. **Sulfuric Acid Solution:** Add 2 mL of sulphuric acid (97%) in approximately 800 mL MQ water and then make up to the line in a 1 L volumetric flask. The solution is stable for 1 week and should be kept at 4 °C when not in use.
2. **Ammonium Molybdate Solution:** Dissolve 20 g ammonium molybdate in approximately 800 mL MQ water and dilute to 1L in a volumetric flask. The solution is stable for 1 day. Metal spatulas should not be used to weigh ammonium molybdate.
3. **Oxalic Acid Solution:** Dissolve 44 g oxalic acid in approximately 800 mL MQ water and dilute to 1L in a volumetric flask. The solution is stable for 1 month and should be kept at 4°C when not in use.

4. **Solución de ácido ascórbico:** disolver 40g de ácido ascórbico en unos 800mL y llevar a 1L en un matraz aforado. La solución es estable por 1 semana y se debe guardar a 4°C cuando no es utilizada.
5. **Patrones de silicato:** Para preparar el patrón primario de 10000 µM de silicato, se disuelven 2.842g de metasilicato disódico y se enrassa en un matraz aforado a 1L. De este patrón primario se toman 100 mL y se lleva a 1L en un matraz aforado y obtendríamos el patrón secundario de 1000 µM.

PATRONES TERCIARIOS

A partir de los patrones secundarios se preparan patrones terciarios multielementales que llamaremos ST (ver tabla a continuación de las concentraciones de cada elemento en µM). Como se preparan en matraces aforados de 1L a partir de los patrones terciarios, los volúmenes en mL que hay que tomar de los patrones coincidirán con la concentración en µM

A diferencia de los patrones primarios y secundarios que pueden durar hasta 1 mes, estos patrones se deben comprobar, pero se recomienda su preparación semanal.

	ST1	ST2	ST3	ST4	ST5	ST6	ST7	ST8	ST9	ST10
NO ₃	0.1	0.2	0.5	1	2	5	5	10	20	30
PO ₄	0.1	0.2	0.5	1	1.5	2	2.5	3	3.5	4
SI	1	2	4	6	8	10	20	30	40	50

WORKING STANDARDS

Combined element working standards (denoted ST) are prepared from the individual secondary standards (see the following table for the concentration of each species in µM). Since they are prepared in 1L volumetric flasks from the secondary standards, the required volumes of secondary in mL is the same as the target concentration in µM.

In contrast to the primary and secondary standards, which are stable for up to a month, the working standards must be checked by careful comparison with previous calibrations, but it is recommended that fresh working standards be prepared weekly.



LIMPIEZA DEL MATERIAL

El material debe limpiarse siguiendo protocolos de limpieza para análisis de nutrientes. Primeramente se deja sumergido al menos 3 días en jabón libre de fosfatos al 5%, se enjuagan bien con agua bidestilada, se dejan al menos 7 días en HCl al 10% y se lavan bien con agua bidestilada nuevamente. Si se quiere secar el material, se debe dejar secar en las campanas de flujo laminar.



TOMA DE MUESTRAS, CONSERVACIÓN Y ALMACENAMIENTO

Las muestras para nutrientes se toman de las botellas Niskin después de recolectar las de gases y metales. Las muestras se toman por duplicado.

Para la obtención de la muestra se utiliza una manguera de silicona conectada a la espita de la botella Niskin. Se añade un poco y se agita bien tres veces, y luego ya se rellena bien la botella y se cierra dejando el espacio necesario para que cuando se congele, no se desborde (un 20% aproximadamente).

Las muestras se congelan a -20°C.

Analizar las muestras lo antes posible.

CLEANING OF EQUIPMENT

The cleaning of equipment and apparatus should follow established cleaning protocols for nutrient analysis. First the items are left submerged for at least 3 days in a 5% solution of phosphate-free detergent, then rinsed thoroughly with MQ water. The apparatus is then left immersed in 10%v/v HCl for at least 7 days and then rinsed thoroughly with MQ water. If it is necessary to dry the items, this should be done in a laminar flow cabinet.

SAMPLE COLLECTION AND STORAGE.

Samples for nutrients are taken from the Niskin bottles after any sampling for dissolved gases or trace metals. Samples are collected in duplicate.

To take the sample, a silicone tube should be attached to the spigot of the Niskin bottle. Rinse the sample bottle three times with a small amount of sample, shaking well with each rinse. Fill the bottle, leaving some air space (approximately 20%) to allow for expansion upon freezing.

Freeze the samples at -20°C.

Analyse the samples as soon as possible after collection.

2

MEDICIONES UTILIZANDO EL SKALAR SAN+

Las mediciones de nutrientes se llevan a cabo en un equipo de análisis de flujo Skalar San+, el cual consta de un automuestreador, la sección química, detectores y la interface (ver figura 1, de izquierda a derecha).

OPERATION OF THE SKALAR SAN+

Nutrient measurements are conducted using a Skalar San+ flow analysis system, which consists of an autosampler, chemical manifold, detectors and a control interface (see figure 1, from left to right).

El equipo se enciende siguiendo este mismo orden (automuestreador a interface) y se apaga en el sentido contrario. Seguidamente deberemos colocar las tapas de las bombas peristálticas para que los tubos comiencen a funcionar.

Debemos primeramente pasar agua MQ durante al menos 30 minutos y luego empezar a pasar los reactivos (cada tubo tiene indicado el reactivo). Para que se stabilice deberemos estar pasando reactivos al menos 30 minutos, en los que podremos ir colocando las muestras y estándares en el automuestreador. Como se muestra en la figura, los estándares se colocan en el fondo de derecha a izquierda y las muestras los tubos de 10mL en los racks (siguiendo el orden que nos indica). Cuando estemos seguros que el buffer ya ha llegado al canal de nitratos, abriremos para que pase por la columna de Cd.



figura 1 / figure 1

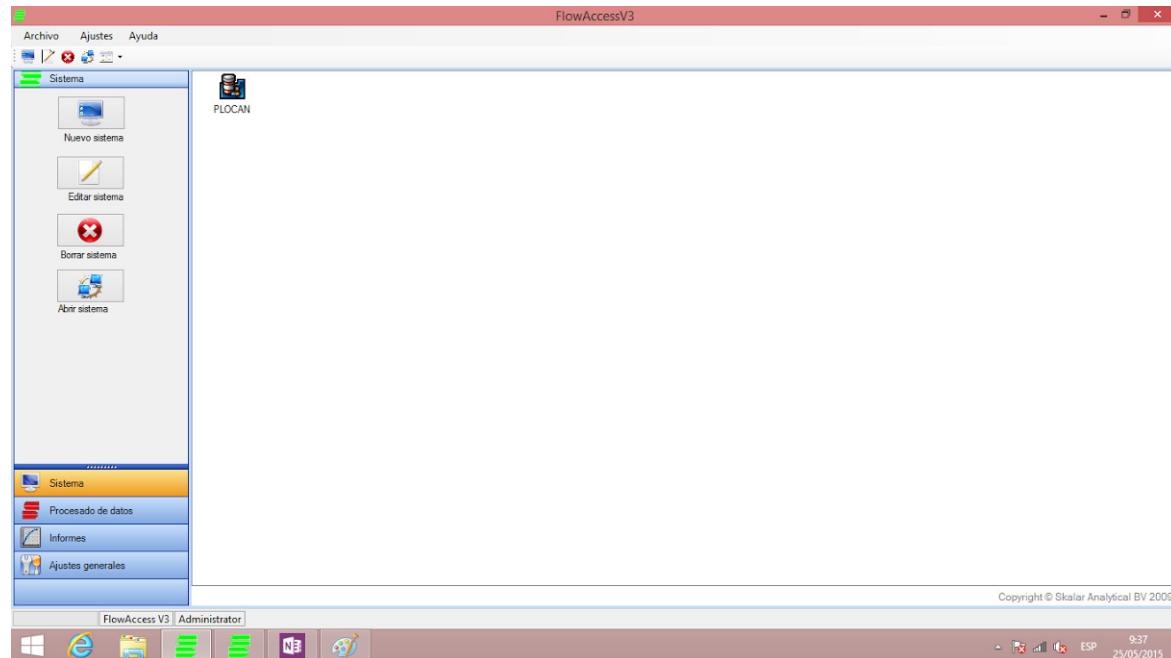
The instrument is powered on in this same order (from autosampler to control interface) and is switched off in reverse order. After switching the system on, the covers of the peristaltic pump decks should fastened so that the pumps begin to operate.

First, flush MQ water through the system for at least 30 minutes, then switch to the reagents (the name of the reagent is indicated on each tube). To allow the system to stabilise, reagents should be passed for at least 30 minutes, during which time samples and standards can be positioned in the autosampler racks. As demonstrated in the following figure, standards are positioned at the back of the autosampler, from right to left, while the 10 mL sample tubes are located in the racks (following the indicated order). Once it is certain that the buffer has filled the nitrate + nitrite channel, open the column valve to let the solution pass through the Cd column.



Para empezar a trabajar con el programa le damos al icono del programa FlowAccessV3 que se encuentra en el escritorio. La pantalla es como la que se muestra en la figura a continuación. Debemos entrar en el ícono de **PLOCAN**.

On the computer, launch the software by clicking on the **FlowAccessV3** icon on the desktop. A screen similar to the figure below should be displayed. Open the **PLOCAN** icon.

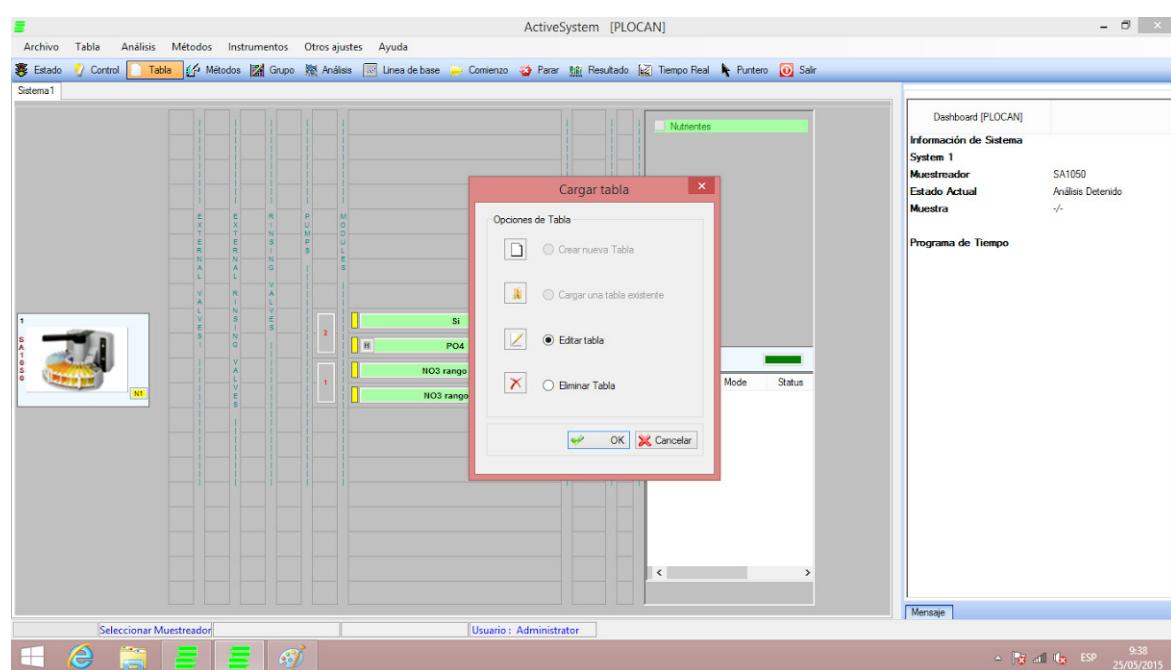


HACER LA TABLA DE DATOS DE MUESTRAS

En lo que están pasando los reactivos podemos hacer la tabla con los datos de las muestras o se puede hacer antes de las mediciones, eso dependerá de cómo nos organicemos. Para hacer la tabla, una vez dentro de **PLOCAN**, vamos al menú superior en 'Tabla' y elegimos 'Editar tabla'.

COMPLETE THE SAMPLE DATA TABLE

While the reagents are being flushed and the system is stabilising, or at any convenient time before the analysis, the sample table should be completed. To edit the table, after opening "**PLOCAN**", go to "**Tabla**" in the menu bar and select "**Editar tabla**".



Por defecto nos saldrá la última tabla que hemos hecho (ver figura), donde se encuentra en primer lugar el trazador (Tracer) que corresponde con el mayor patrón, el drift que se debe elegir un patrón de concentración media/alta, los lavados después de cada uno de estos, los estándares y muestras. Cada 10 muestras deberemos medir el drift y hacer un lavado.

By default, the last table that was used will be displayed (see figure). The first entry will be a **Tracer**, which corresponds to the highest calibration standard, followed by a Wash, then a Drift standard (which uses a medium/high concentration standard). Wash samples are positioned immediately after the Tracer and Drift standards and following any block of calibration standards or samples. A drift and wash should be measured after every 10 sample measurements.

Todas las muestras hay que decir la posición en la que se encuentra (**columna más a la izquierda**) y se le debe indicar al programa que tipo de muestra es (**segunda columna**). Luego ya nosotros podremos darle el nombre que queremos (**tercera columna**).

For each sample or standard, it is necessary to specify the position in the sample rack (**left-most column**) together with the sample type (**second column from left**). A name to identify the solution is entered in the **third column**.

Entrada de Tablas ES0415NO3alto

Posición	Marcar	Identidad	Peso	Factor de dilución externo	S1 Results	P04 Results	NO3 rango bajo Results	NO3 rango alto Results
1	S19	Tracer	1.0000	1.0000	✓	✓	✓	✓
2	WT	W	Wash	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
3	ST6	D	Drift	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
4	WT	W	Wash	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
5	ST1	S1	P-N0.1P0.1S1	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
6	ST2	S2	P-N0.2P0.2S2	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
7	ST3	S3	P-N0.5P0.5S4	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
8	ST4	S4	P-N1P1S16	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
9	ST5	S5	P-N2P1.5S8	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
10	ST6	S6	P-N5P2S10	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
11	ST7	S7	P-N5P2.5S20	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
12	ST8	S8	P-N10P3S30	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
13	ST9	S9	P-N20P3.5S40	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
14	ST10	S10	P-N30P4S50	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
15	ST6	D	Drift	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
16	WT	W	Wash	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
17	A1	U	P-N0.1P0.1S1	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
18	A2	U	P-N0.2P0.2S2	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
19	A3	U	P-N0.5P0.5S4	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
20	A4	U	P-N1P1S16	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
21	A5	U	P-N2P1.5S8	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
22	A6	U	P-N5P2S10	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
23	A7	U	P-N5P2.5S20	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
24	A8	U	P-N10P3S30	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
25	A9	U	P-N20P3.5S40	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
26	A10	U	P-N30P4S50	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
27	ST6	D	Drift	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
28	WT	W	Wash	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
29	A11	U	MQ	1.0000	1.0000	✓	✓	✓

User :Administrator Sampler Name :SA1050

Entrada de Tablas ES0415NO3alto

Posición	Marcar	Identidad	Peso	Factor de dilución externo	S1 Results	P04 Results	NO3 rango bajo Results	NO3 rango alto Results
1	S19	Tracer	1.0000	1.0000	✓	✓	✓	✓
2	WT	W	Wash	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
3	ST6	D	Drift	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
4	WT	W	Wash	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
5	ST1	S1	P-N0.1P0.1S1	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
6	ST2	S2	P-N0.2P0.2S2	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
7	ST3	S3	P-N0.5P0.5S4	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
8	ST4	S4	P-N1P1S16	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
9	ST5	S5	P-N2P1.5S8	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
10	ST6	S6	P-N5P2S10	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
11	ST7	S7	P-N5P2.5S20	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
12	ST8	S8	P-N10P3S30	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
13	ST9	S9	P-N20P3.5S40	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
14	ST10	S10	P-N30P4S50	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
15	ST6	D	Drift	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
16	WT	W	Wash	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
17	A1	U	P-N0.1P0.1S1	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
18	A2	U	P-N0.2P0.2S2	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
19	A3	U	P-N0.5P0.5S4	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
20	A4	U	P-N1P1S16	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
21	A5	U	P-N2P1.5S8	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
22	A6	U	P-N5P2S10	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
23	A7	U	P-N5P2.5S20	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
24	A8	U	P-N10P3S30	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
25	A9	U	P-N20P3.5S40	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
26	A10	U	P-N30P4S50	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
27	ST6	D	Drift	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
28	WT	W	Wash	1.0000	1.0000	✓	✓	✓
29	A11	U	MQ	1.0000	1.0000	✓	✓	✓

User :Administrator Sampler Name :SA1050

Si queremos borrar o agregar filas, deberemos colocarnos sobre la posición de la muestra, no nos sirve seleccionar toda la fila.

En caso que no queremos modificar la tabla anterior, tendremos también la posibilidad de crear una nueva con la ayuda del 'asistente de creación de Tablas'. En la primera opción debemos tener seleccionados los 4 racks de 35 posiciones (como se ve en la figura)

To add or delete rows, click the sample entry – do not try to select the whole row.

If modifying the previously used table is not desired, it is also possible to create a new table using a table setup assistant (asistente de creación de Tablas). In the first step it is necessary to select 4 racks of 35 positions (as shown in the figure).

En la opción de Trazador deberemos introducir la posición donde se encuentra el estándar más alto (suele ser ST10)

In the "Tracer" (Trazador) option the location of the highest concentration standard should be entered (usually in position ST10)




En la opción de **Deriva** deberemos colocar la posición del vial de deriva, que coincidirá con la posición del estándar que cumplirá esta función (ST6 por ejemplo). En **Ajuste de intervalo** pondremos el valor de 10, de esta manera estamos diciendo que cada 10 muestras va a medir el estándar de la deriva y a hacer un lavado.

Under the “**Drift**” (Deriva) section, enter the position of the standard which is being used as a drift (ST6, for example). In the “**Interval Setting**” (Ajuste de intervalo) put a value of 10 so that a drift (deriva) and wash (lavado) is measured after every 10 samples.

Posición	Marca	Identidad	Comentarios	Peso	Factor de dilución extremo	Si Results	P04 Results	NO3 rango bajo Results	NO3 rango alto Results
1	T	Trazador		1.0000	1.0000	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
2	WT	W	Wash	1.0000	1.0000	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
3	ST6	D	Drift	1.0000	1.0000	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
4	WT	W	Wash	1.0000					
5	ST1	S1	P-N01P0.1S1	1.0000					
6	ST2	S2	P-N02P0.2S2	1.0000					
7	ST3	S3	P-N0.5P0.5S4	1.0000					
8	ST4	S4	P-N1P1S6	1.0000					
9	ST5	S5	P-N2P1.5S8	1.0000					
10	ST6	S6	P-N5P2S10	1.0000					
11	ST7	S7	P-N5P2.5S20	1.0000					
12	ST8	S8	P-N10P3S30	1.0000					
13	ST9	S9	P-N20P3.5S40	1.0000					
14	ST10	S10	P-N30P4S50	1.0000					
15	ST6	D	Drift	1.0000					
16	WT	W	Wash	1.0000					
17	A1	U	P-N01P0.1S1	1.0000					
18	A2	U	P-N02P0.2S2	1.0000					
19	A3	U	P-N0.5P0.5S4	1.0000					
20	A4	U	P-N1P1S6	1.0000					
21	A5	U	P-N2P1.5S8	1.0000					
22	A6	U	P-N5P2S10	1.0000					
23	A7	U	P-N5P2.5S20	1.0000					
24	A8	U	P-N10P3S30	1.0000	1.0000	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
25	A9	U	P-N20P3.5S40	1.0000	1.0000	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
26	A10	U	P-N30P4S50	1.0000	1.0000	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
27	ST6	D	Drift	1.0000	1.0000	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
28	WT	W	Wash	1.0000	1.0000	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
29	A11	U	MQ	1.0000	1.0000	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

En la opción de **Patrones** deberemos indicar la posición del primer patrón (ST1) y el número de patrones (que debe ser 10).

In the “**Standards**” (Patrones) section, indicate the position of the first standard (ST1) and the total number of standards (which should be 10).

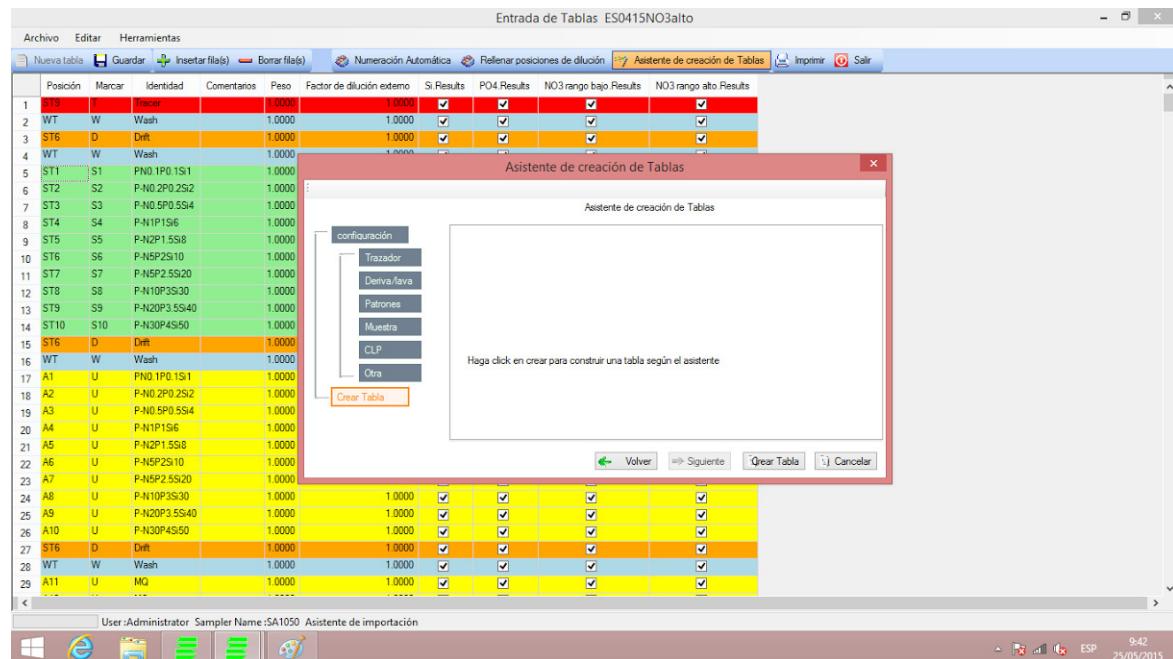
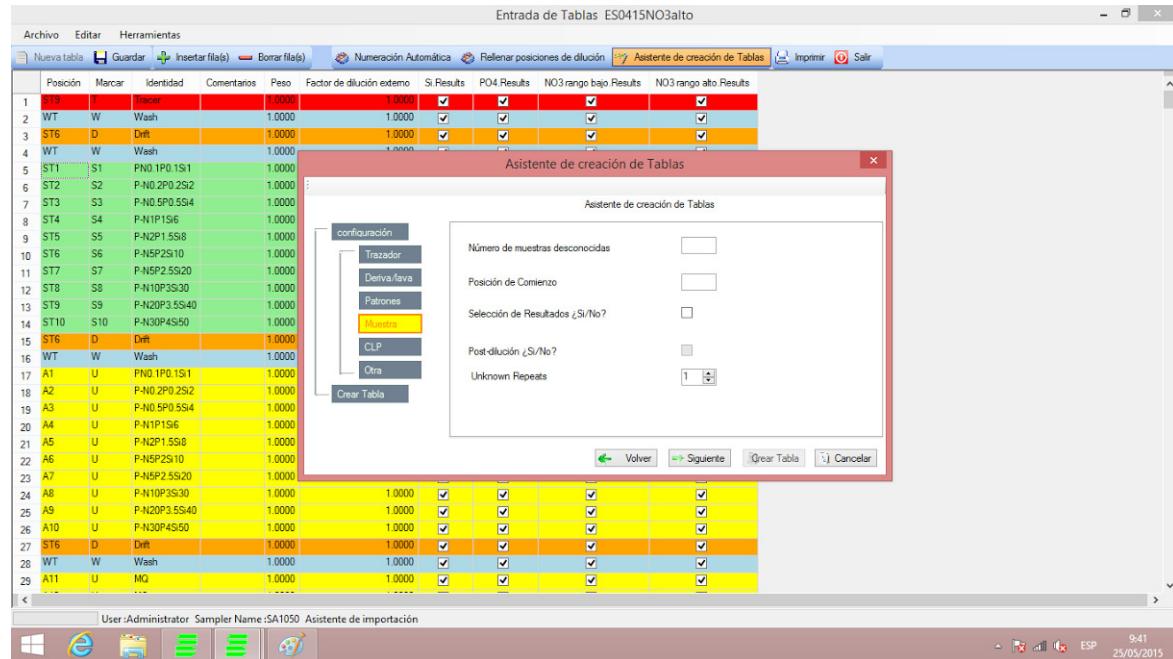
Posición	Marca	Identidad	Comentarios	Peso	Factor de dilución extremo	Si Results	P04 Results	NO3 rango bajo Results	NO3 rango alto Results
1	T	Trazador		1.0000	1.0000	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
2	WT	W	Wash	1.0000	1.0000	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
3	ST6	D	Drift	1.0000	1.0000	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
4	WT	W	Wash	1.0000					
5	ST1	S1	P-N01P0.1S1	1.0000					
6	ST2	S2	P-N02P0.2S2	1.0000					
7	ST3	S3	P-N0.5P0.5S4	1.0000					
8	ST4	S4	P-N1P1S6	1.0000					
9	ST5	S5	P-N2P1.5S8	1.0000					
10	ST6	S6	P-N5P2S10	1.0000					
11	ST7	S7	P-N5P2.5S20	1.0000					
12	ST8	S8	P-N10P3S30	1.0000					
13	ST9	S9	P-N20P3.5S40	1.0000					
14	ST10	S10	P-N30P4S50	1.0000					
15	ST6	D	Drift	1.0000					
16	WT	W	Wash	1.0000					
17	A1	U	P-N01P0.1S1	1.0000					
18	A2	U	P-N02P0.2S2	1.0000					
19	A3	U	P-N0.5P0.5S4	1.0000					
20	A4	U	P-N1P1S6	1.0000					
21	A5	U	P-N2P1.5S8	1.0000					
22	A6	U	P-N5P2S10	1.0000					
23	A7	U	P-N5P2.5S20	1.0000					
24	A8	U	P-N10P3S30	1.0000	1.0000	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
25	A9	U	P-N20P3.5S40	1.0000	1.0000	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
26	A10	U	P-N30P4S50	1.0000	1.0000	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
27	ST6	D	Drift	1.0000	1.0000	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
28	WT	W	Wash	1.0000	1.0000	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
29	A11	U	MQ	1.0000	1.0000	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

En la sección de **Muestra**, introduciremos el número de muestras (incluye las muestras, muestras de agua MQ que queremos pasar y estándares que hemos colocado como muestras). Indicar la posición de comienzo (que suele ser A1, pero dependerá de como hayamos colocado las muestras) y por último marcamos la casilla de **Selección de resultados**.

Under “**Sample**” (Muestra), introduce the number of samples (including samples, MQ samples that are to be included, and standards that will be measured as samples). Enter the start position (usually A1, although this depends on how the samples have been organised in the racks) and make sure the option “**Selección de resultados**” is selected.

Por último en la opción de **Crear tabla**, damos a **Crear tabla** y se genera automáticamente.

Finally, under “**Create Table**” (Crear Tabla), click “**Crear Tabla**” and the table will be generated automatically.



AJUSTE DE DETECTORES Y COMPROBACIÓN DE LA LÍNEA BASE

Para ajustar los detectores deben estar pasando los reactivos y la columna de Cd estar abierta. Es recomendable que lo hagamos después de media hora de estar pasando los reactivos.

Cada compuesto a medir tiene dos canales (A y B). Los valores buscados serán $A = 100 \pm 10$, $B = 80 \pm 10$ y la diferencia $A-B = 20 \pm 10$.

Para ajustar tenemos dos sistemas: fine y coarse, normalmente ajustaremos utilizando solo el fine, pero si vemos que llegamos al tope y no se ajusta al valor que queremos, entonces moveremos la rueda del coarse. En la pantalla veremos el valor de intensidad. Si aparecieran EEE es que está saturada la señal, deberemos intentar disminuir hasta que entre en el rango.

ADJUSTING THE DETECTOR AND CHECKING THE BASELINE

Before adjustment, ensure that reagents are flowing through the detectors and that the Cd column is open. It is advisable to pump reagents through the system for at least half an hour before adjustment, to allow the system to stabilise.

Each detector has two channels (A and B). The ideal values are $A = 100 \pm 10$ and $B = 80 \pm 10$ with a difference $A-B = 20 \pm 10$.

There are two adjustment controls: fine and coarse. Normally it is only necessary to use the fine adjustment, but if one of the fine controls reaches its limit and the target value cannot be reached then the coarse adjustment dial can be used. A screen displays the current intensity value. If EEE is displayed then the detector signal is saturated and must be reduced until it is back in the measurement range.

Para ajustar colocamos el interruptor en el canal que queremos, primeramente subimos la pestaña que podemos ver señalada en la figura, y entonces empezamos a mover la rueda hasta que vayamos obteniendo el valor deseado. El detector es de respuesta muy lenta, así que debemos esperar unos segundos para ver el valor final. Cuando tengamos el valor deseado, colocamos la pestaña de nuevo en su posición inicial para impedir que se mueva la rueda.

Este proceso lo repetimos para todos los canales.

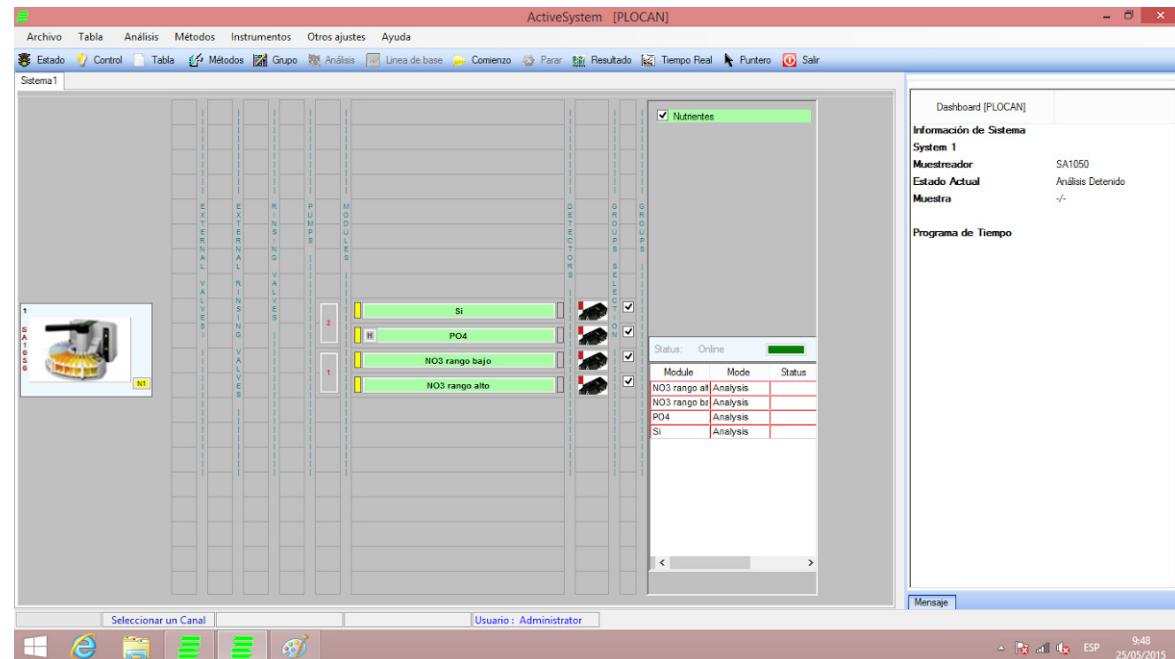


For adjustment, move the central dial to the required channel and lift the switch indicated in the figure below before adjusting the dials to obtain the desired value. The detector has a slow response, so it is necessary to wait a few seconds after moving the dial until a stable value is obtained. Once adjustment is complete, move the switches to their initial positions to fix the dials in position.
Repeat this process for all of the channels.

Una vez tengamos ajustados los detectores, pasaremos a visualizar la Línea base para comprobar que todo está correcto. Para ello en el menú superior seleccionamos ‘Línea Base’ y seleccionaremos la casilla de nutrientes y cada canal que vayamos a utilizar:



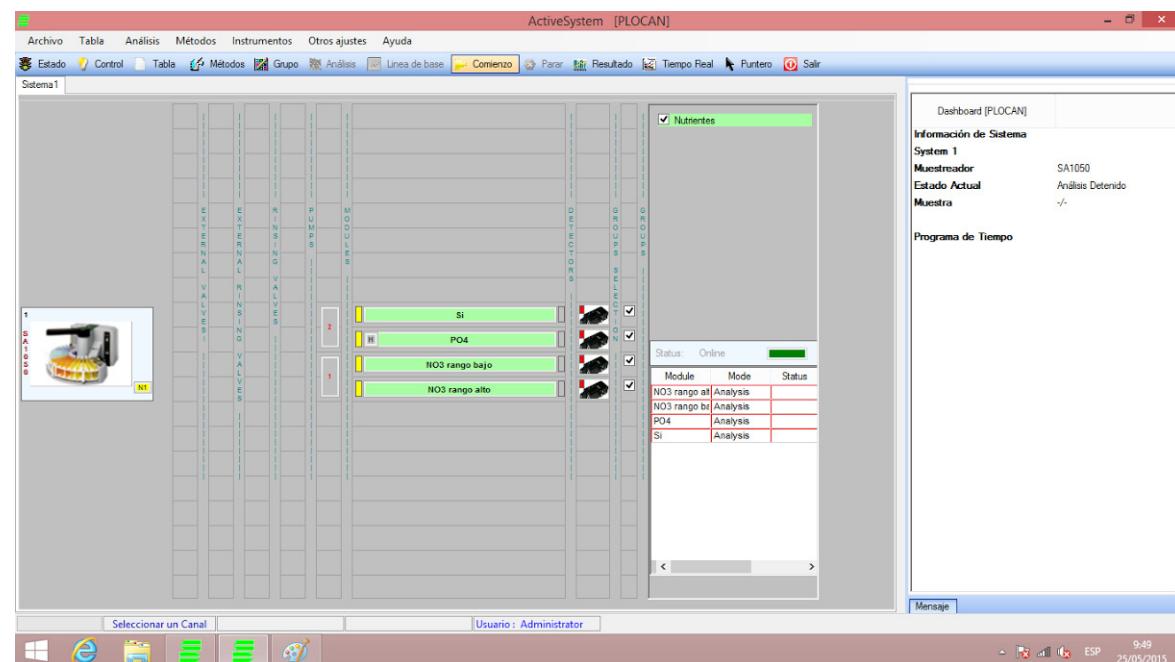
Once the detectors are correctly adjusted, it is necessary to view the baseline to check that everything is working correctly. To do this, in the upper menu bar select “Línea Base” then select the “Nutrientes” check box and each of the channels that are being used:



Una vez seleccionados los canales que queremos visualizar, le damos a ‘Comienzo’ en el menú superior y a ‘Tiempo Real’.

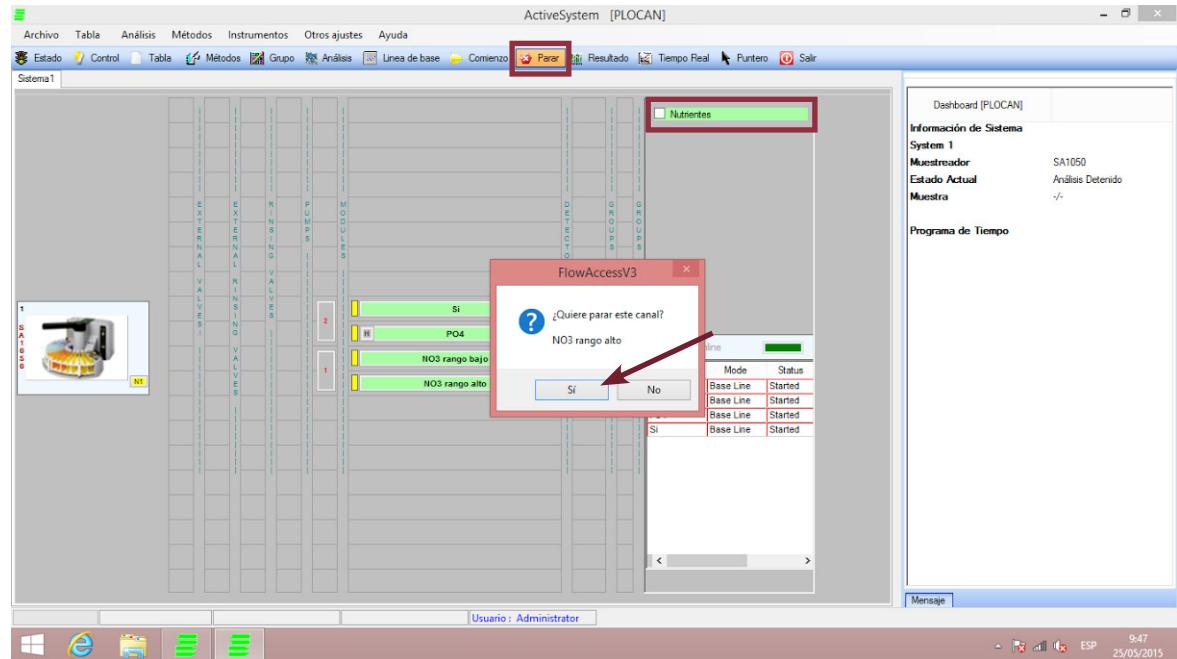


Once the required channels have been selected, click “Comienzo” in the upper menu bar and “Tiempo Real”.



Cuando ya hemos acabado, en el menú damos a ‘Parar’ y tendremos que deseleccionar la casilla de **nutrientes**, nos aparecerá un mensaje diciendo que si queremos apagar este canal y diremos a todo que **Si**.

Once finished, click “**Parar**” in the menu bar and deselect the “**Nutrientes**” check box. Messages will appear asking for confirmation to stop each channel, which must be given by clicking “**Sí**” to each in turn.



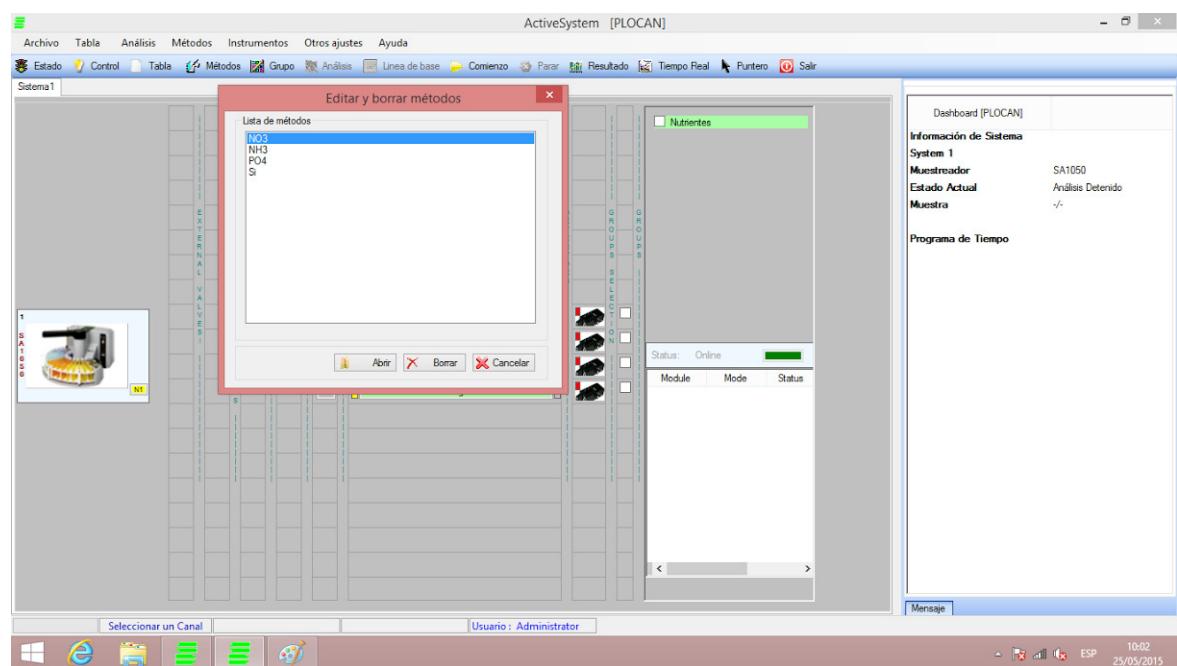
MÉTODO

En el menú superior, en **Método**, podremos entrar para hacer algún cambio que queramos hacer, aunque no se recomienda introducir ningún cambio a no ser que sea necesario.



METHOD

In the upper menu bar under **Method** (Método) it is possible to make numerous changes, although it is recommended not to change anything unless absolutely necessary.

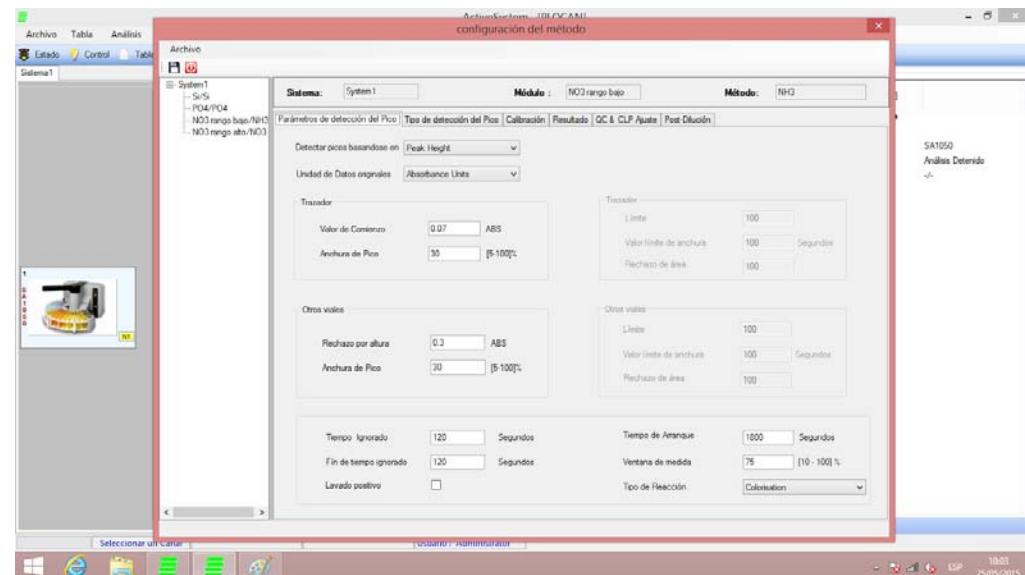


En caso que decidamos hacer algún cambio, pinchamos en el nombre del método y se nos abrirá la ventana que contiene todos los datos (ver figura). En este menú solo sería recomendable

If a change is required, select the name of the method and a window will open containing all the details of that particular method (see the figure 4). In this section, it is normally only necessary to change the calibration

cambiar la calibración, en caso que cambiemos el número de patrones, su concentración, etc., pero lo demás no debería hacer falta cambiarlo.

details such as the number of standards or their concentration. The other parameters should be left as they are.



ANÁLISIS

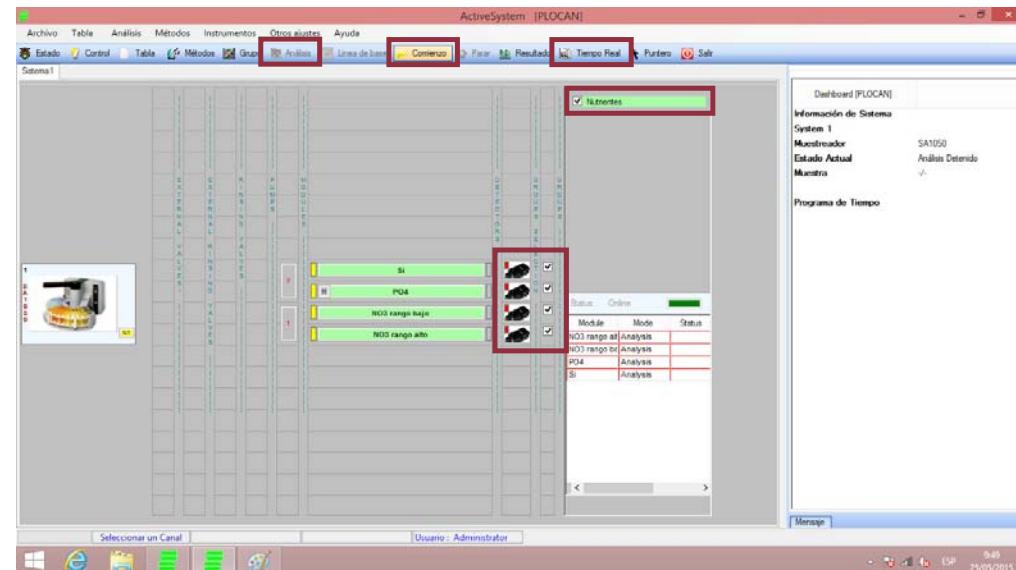
Para comenzar con el análisis primero le damos al botón ‘Análisis’ en el menú superior, luego tendremos que seleccionar la casilla de nutrientes y elegir los canales con los que vamos a trabajar. Le daremos a ‘Comienzo’ y en ‘Tiempo real’ podremos ir viendo los gráficos en tiempo real.

ANALYSIS

To start the analysis, click “Análisis” in the upper menu bar, then select the “nutrientes” check box and select each channel that will be used in the analysis. Then select “Comienzo” and “Tiempo Real” so that the graphical output can be viewed in real time.

Si quisiéramos ver los resultados, entrariamos en ‘Resultados’. Ahí podríamos ver los resultados a medida que van saliendo. Si queremos agregar o quitar muestras, cambiar nombre, etc., (pero solo de aquellas que no han sido medidas aún) podremos entrar en ‘Tabla’ y seleccionar ‘editar tabla’.

To see the results, select “Resultados”. There the individual results can be inspected as they are produced. It is possible to add or remove samples and change sample names, etc., (providing they have not yet been measured) by entering the “Tabla” section and going to “Editar Tabla”.



PROCESADO DE DATOS

Una vez haya terminado el análisis o queramos abrir análisis antiguos, iremos a la ventana inicial del programa y en la pestaña 'Procesado de datos' veremos desplegado todos los análisis que han terminado.



Referencia de la base de datos	Nombre Mostrado del Análisis	Inicio de Análisis Fecha...	Fin de Análisis Fecha...	Descripción	Comentarios de Usuario
PLOCAN14052015A0	PLOCAN14052015A0	14/05/2015 11:27:13	14/05/2015 13:37:48	Analysis Completed	
PLOCAN13052015A0	PLOCAN13052015A0	13/05/2015 12:11:41	13/05/2015 14:17:42	Analysis Completed	
PLOCAN12052015A1	PLOCAN12052015A1	12/05/2015 13:22:48	12/05/2015 15:56:52	Analysis Completed	
PLOCAN10052015A0	PLOCAN10052015A0	12/05/2015 10:10:46	12/05/2015 13:20:33	Analysis Completed	
PLOCAN08052015A0	PLOCAN08052015A0	08/05/2015 12:02:57	08/05/2015 15:02:39	Analysis Completed	
PLOCAN07052015A1	PLOCAN07052015A1	07/05/2015 14:49:50	07/05/2015 17:10:19	Analysis Completed	
PLOCAN07052015A0	PLOCAN07052015A0	07/05/2015 10:43:09	07/05/2015 14:33:02	Analysis Completed	
PLOCAN06052015A1	PLOCAN06052015A1	06/05/2015 15:45:46	06/05/2015 17:57:09	Analysis Completed	
PLOCAN06052015A0	PLOCAN06052015A0	06/05/2015 12:30:14	06/05/2015 15:33:16	Analysis Completed	
testaguadear1	testaguadear1	05/05/2015 17:44:51	05/05/2015 18:10:40	Analysis Completed	
Testmb3	Testmb3	05/05/2015 16:48:20	05/05/2015 17:43:11	Analysis Completed	

DATA PROCESSING

Once the analysis has finished or if we want to view a previous analysis, go to the initial program window and select the tab "Procesado de datos", which will open to show all the analyses that have finished.



Si presionamos sobre el análisis que nos interese, se abrirá la ventana que vemos a continuación:



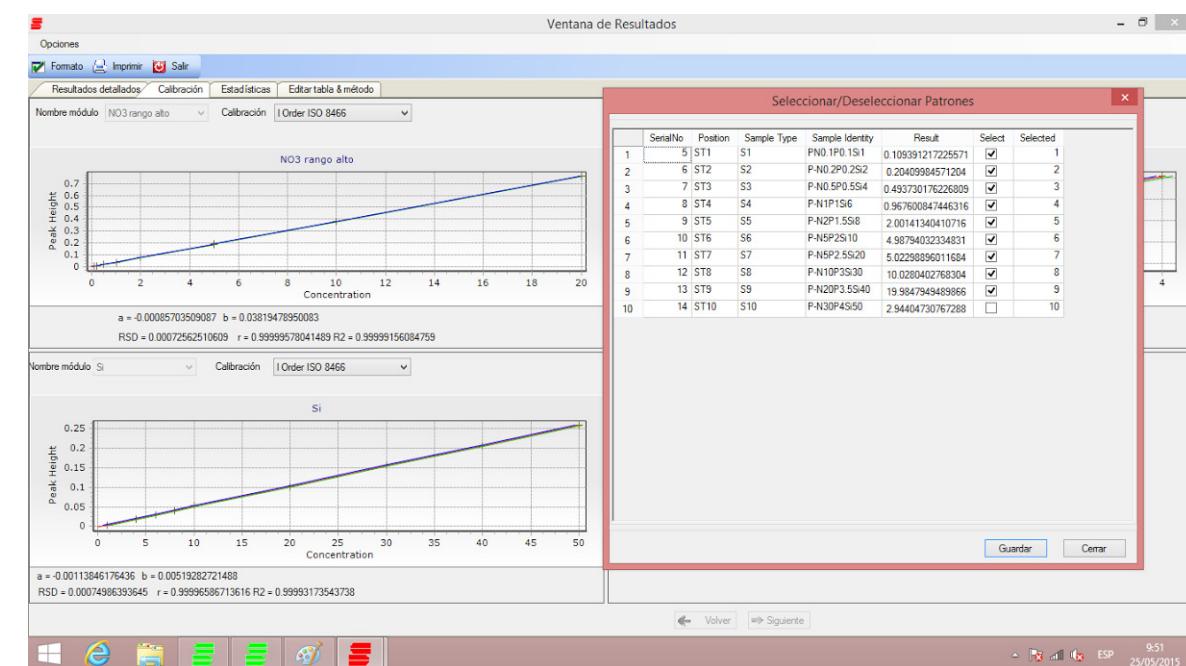
If the sample run of interest is selected a window similar to the following will be shown:

En la pantalla anterior presionamos ‘Resultados’ y se nos abrirá una ventana con los resultados y demás datos del análisis:

In this window select “Resultados” to open a window showing the results and other run details:

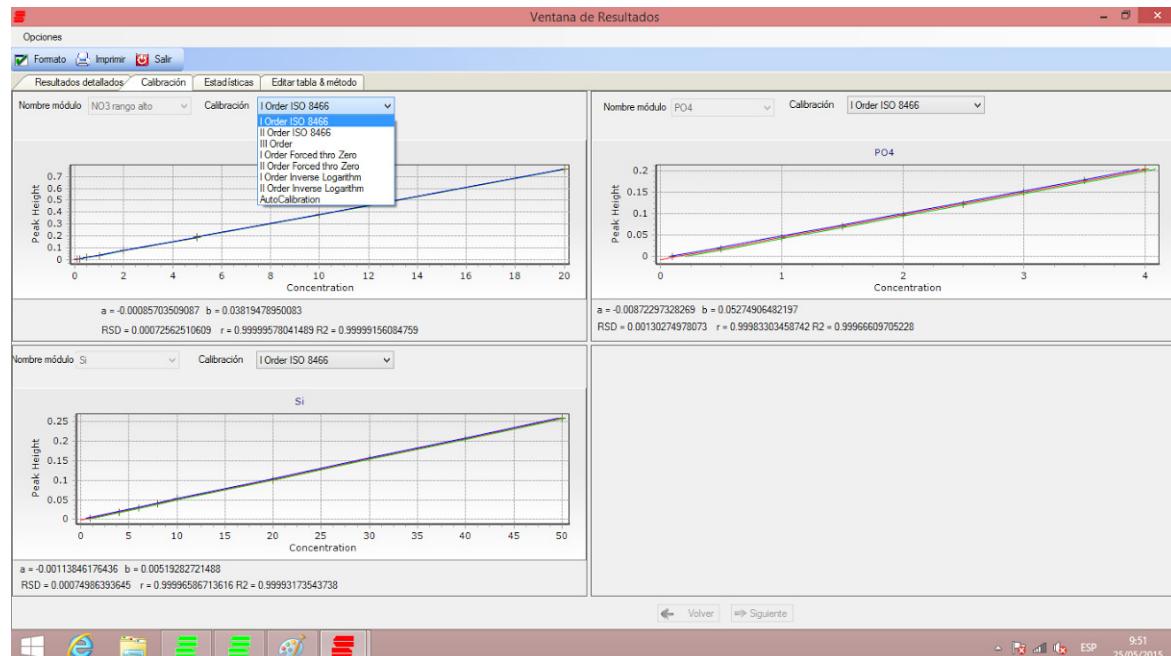
En la pestaña de ‘Calibración’ podremos ver los datos de las calibraciones, pinchando 2 veces sobre el nombre del canal que queremos, se nos abrirá la tabla de los estándares y ahí podremos seleccionar los que queremos que se tengan en cuenta, esto es en caso que veamos algún valor mal y no queremos que esté en los cálculos:

In the “Calibración” tab, the calibration parameters can be seen by double-clicking on the name of the desired channel. A table of standards will be shown where it is possible to select which standards to include in the calibration curve used to calculate the sample concentrations:



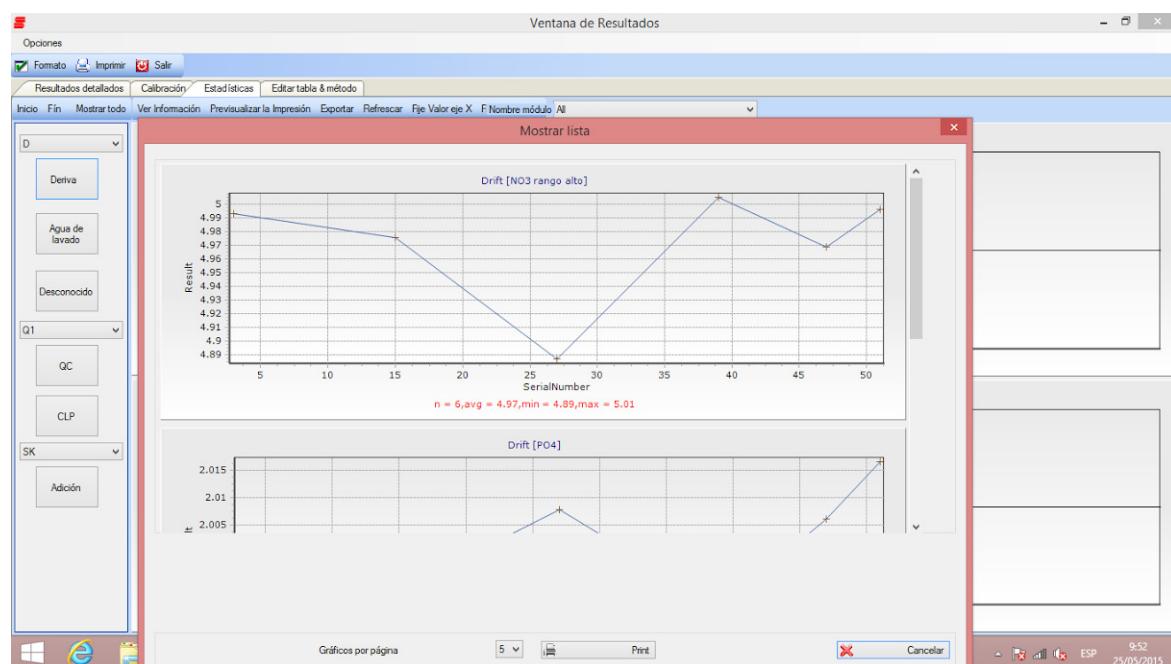
También en la opción de **Calibración**, podremos elegir el tipo de ajuste que queremos, es recomendable que elijamos ‘I orden ISO8466’, ya que es una ecuación lineal de primer orden:

Also under “**Calibración**” is an option to select the type of calibration curve to use, although it is recommended to use “**I order ISO 8466**”, which corresponds to a first order linear fit:



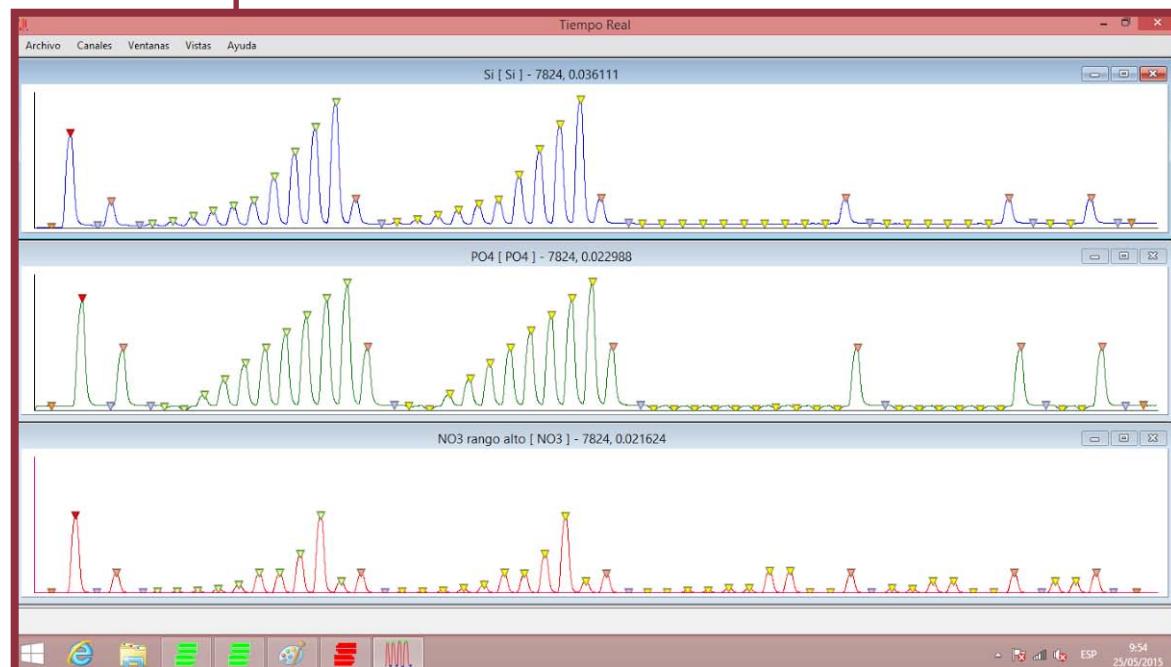
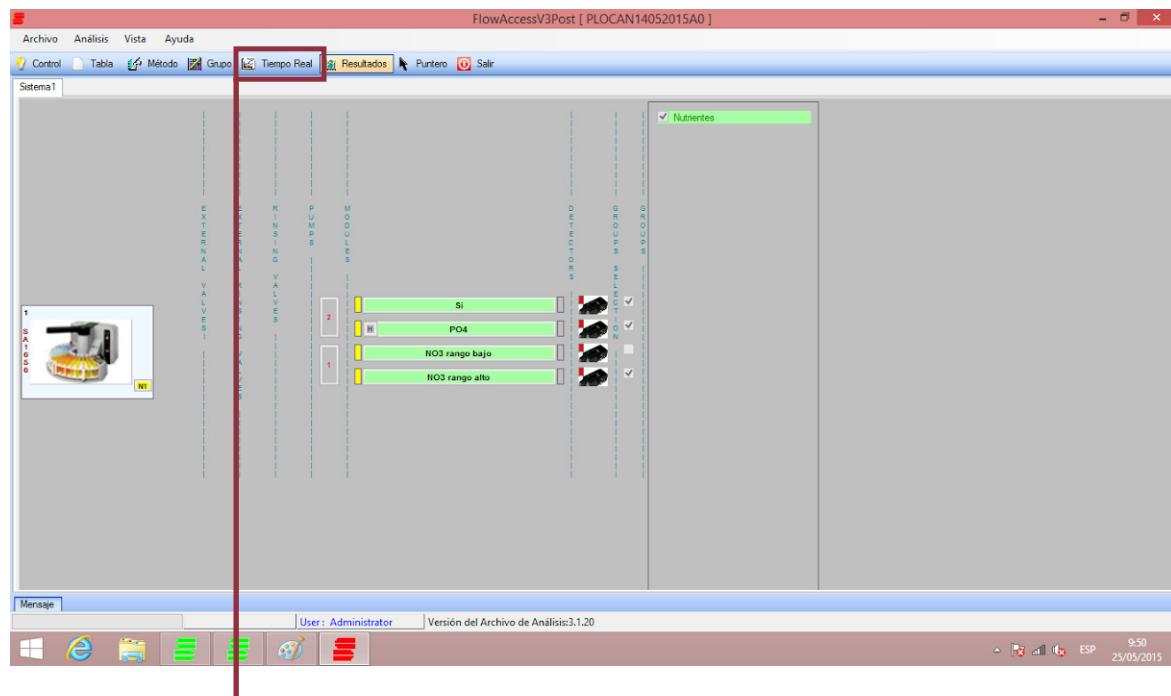
Luego dentro de esta ventana también tendremos la opción de ver los valores del Drift, del agua de limpieza, etc., en caso que deseemos ver cómo ha ido evolucionando:

A further option in this section gives the possibility to view the values of the Drift and wash solutions and how they have changed during the analytical run:



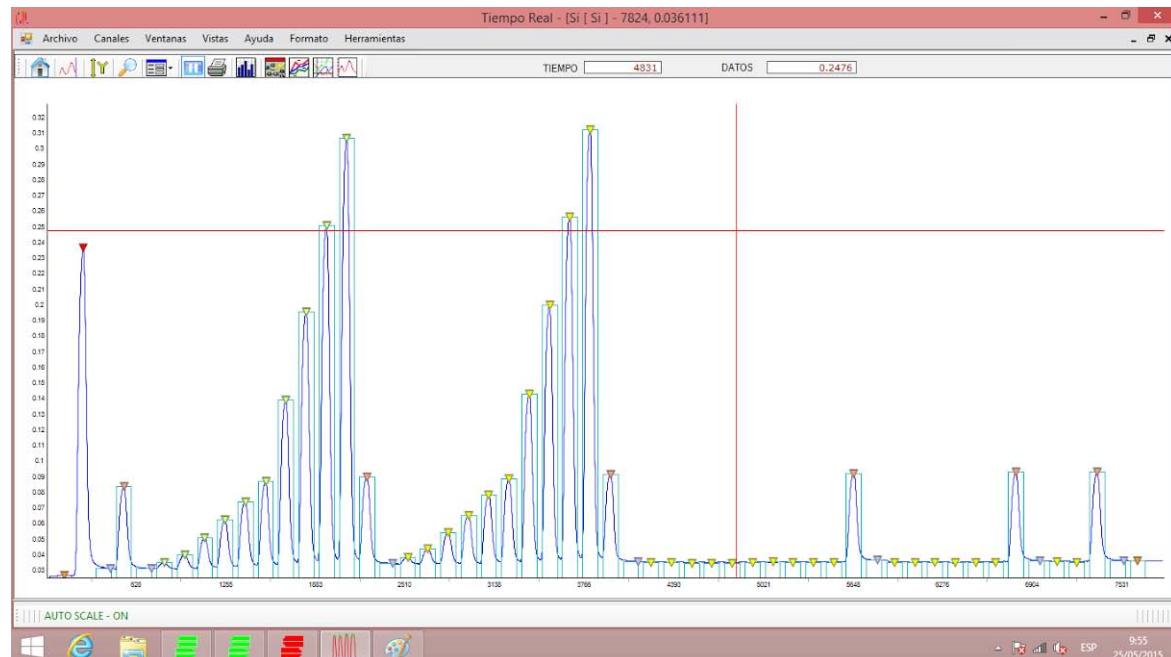
Si volvemos a la ventana principal en la opción de 'Tiempo Real' podremos ver los picos de resultados de las muestras:

Returning to the main window and selecting the option "Tiempo Real" shows the raw peak data from the run:



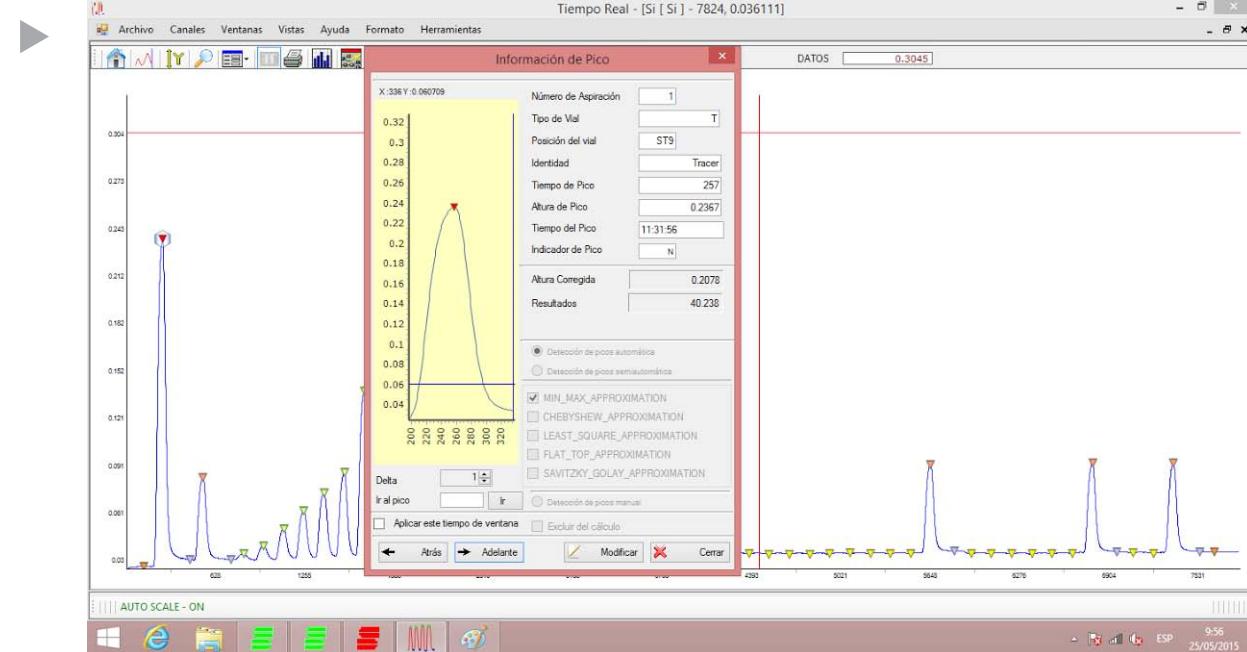
Si queremos ver el gráfico de los resultados de un canal, pinchamos dos veces sobre el nombre del mismo y entraremos en la pantalla siguiente:

To see graphical results for one channel, double click on its name and a screen similar to the following will be shown:



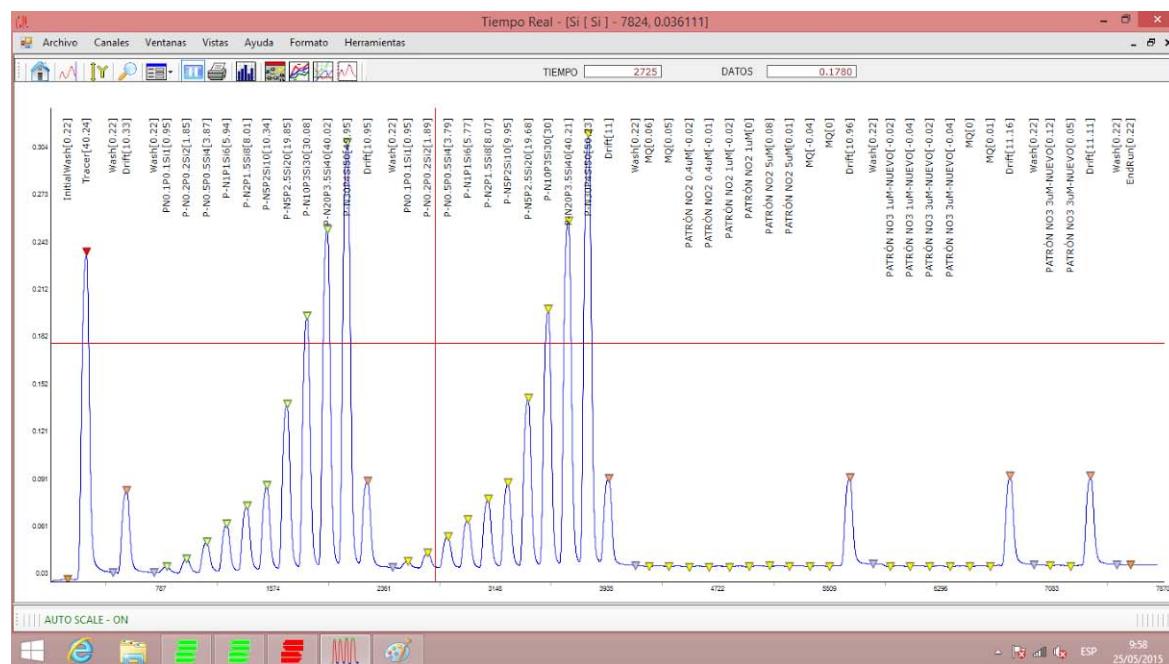
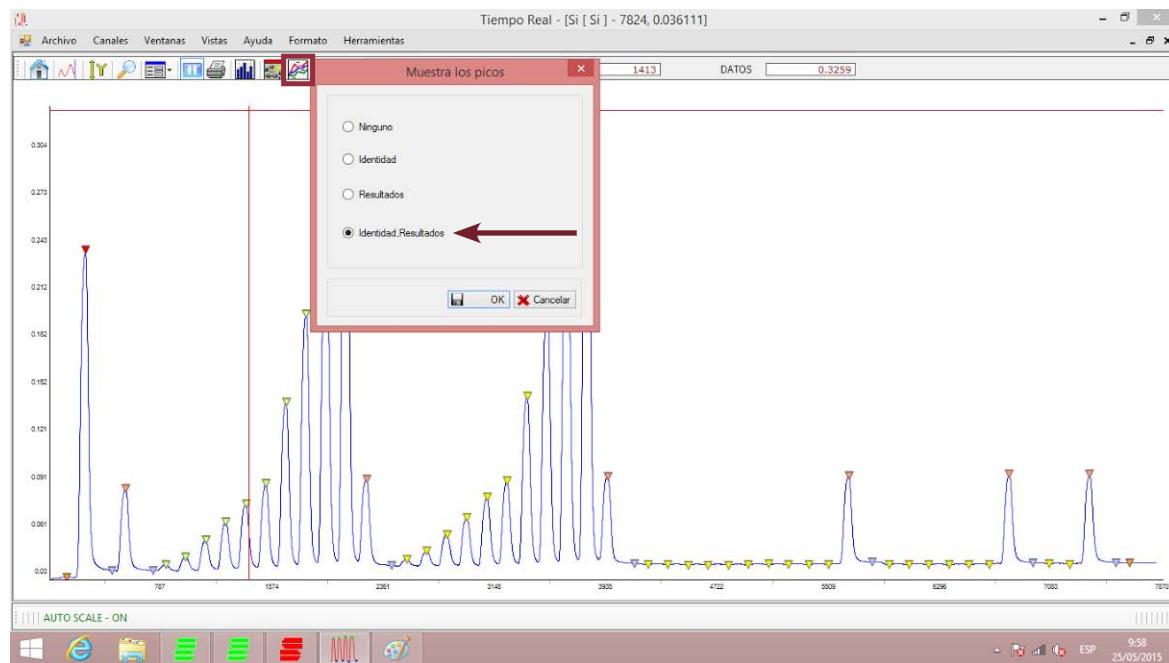
En caso que queramos modificar la altura a la que se ha detectado el pico, pinchamos sobre el punto que queremos y se abre la ventana que se muestra a continuación. En ‘modificar’ y luego ‘Adelante’ o ‘Detrás’, moveremos el punto que ha detectado el sistema y podremos variar la altura para el cálculo. Luego presionamos ‘Guardar’ y se habrá cambiado:

To change the point at which the peak height has been measured, click on the desired peak and the window shown in the following figure will open. Selecting “Modificar” (modify) then “Adelante” (forwards) or “Detras” (backwards), the peak selection point can be moved to select the correct height for the result calculation. Finally choose “Guardar” (save) and the peak will have been updated:



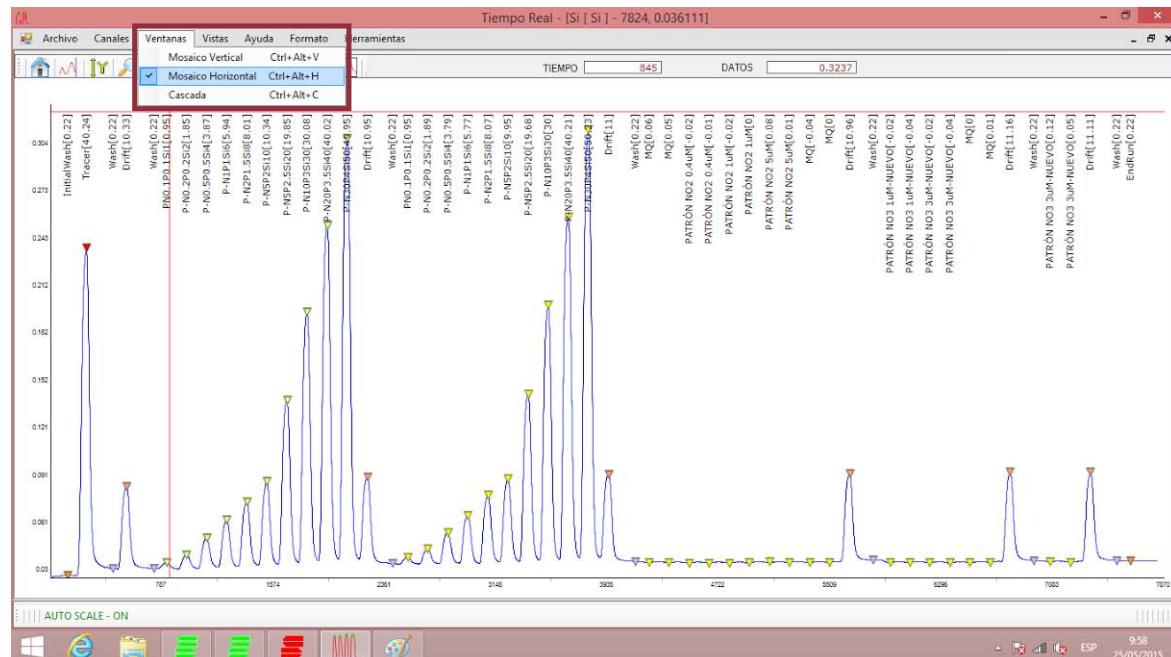
También en esta ventana podremos en el recuadro de 'Muestra los picos' seleccionar 'Identidad / Resultados' y podremos ver los datos de las muestras:

Also in this window, by selecting the icon “Muestra los picos” and selecting “Identidad / Resultados” the sample data will be shown next to the peaks:



Para volver a ver todos los canales en el menú 'Ventanas', seleccionamos 'Mosaico Vertical u horizontal' y volveremos a visualizar todos los picos en todos los canales:

To go back to the view showing all the channels, select "Mosaico Vertical u horizontal" (vertical or horizontal mosaic):



3

REFERENCIAS

- **Hansen, H. P. and Koroleff, F. (1999)**
Determination of nutrients, in Methods of Seawater Analysis, Third Edition
(eds K. Grasshoff, K. Kremling and M. Ehrhardt), Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, Germany. doi: 10.1002/9783527613984.ch10
- **Knap, A., A. Michaels, A. Close, H. Ducklow and A. Dickson (eds.)**
1996. *Protocols for the Joint Global Ocean Flux Study (JGOFS) Core Measurements.* JGOFS Report Nº 19.



Carretera de Taliarte, s/n.
35214 Telde - Las Palmas - España
Teléfono +34 928 134 414 • Fax: +34 928 133 032