Guide d’utilisation du GC et des techniques de terrain

1. Méthode headspace (Shaky)

2. Méthode headspace labo (Wheaton)

3. Bonbonnes

4. Comment passer des échantillons au GC

5. Annexe

**1. Méthode headspace (Shaky)**

1. Conditionner la bouteille de Shaky avec l’eau du lac 3 fois en déversant l’eau de l’autre côté du bateau

2. Remplir la bouteille de Shaky avec l’eau du lac

a. S’assurer de remplir à partir du bas de la bouteille et laisser l’équivalent de 2 volumes de bouteille sortir (permet de s’assurer que le gaz dans le Shaky est vraiment issu du lac)

b. Installer le bouchon en silicone en s’assurant que les valves soient ouvertes

3. Créer le headspace dans la bouteille et équilibrer les gaz

a. Installer une seringue de 60 ml avec un robinet d’arrête en plastique sur le tube qui se rend au fond de la bouteille

b. Siphonner 60 ml d’eau lentement en laissant l’air entrer par l’autre valve

c. Jeter l’eau à l’extérieur du bateau.

d. Siphonner à nouveau 60 ml d’eau et la CONSERVER dans la seringue, elle sera nécessaire à la prochaine étape.

e. Fermer toutes les valves (bouteilles Shaky et seringue)

f. Agiter vigoureusement la bouteille Shaky pendant 2 minutes pour équilibrer les gaz

4. Prendre les échantillons

a. Replacer la seringue de 60 ml sur le tube qui se rend au fond de la bouteille

b. Placer une seringue de 25 ml munie d’un robinet d’arrêt sur l’autre tube de la bouteille (celui qui est dans le headspace)

c. Ouvrir les valves des deux seringues

d. Gentiment remettre 5 ml d’eau dans la bouteille et tirer légèrement le piston de la seringue de 25 ml pour récolter le gaz.

e. Mettre la valve du tube de la seringue pour ferme la bouteille, mais laisser échapper le gaz vers l’atmosphère et vider la seringue pour conditionner les robinets d’arrêts.

f. Injecter 15 ml d’eau dans la bouteille et récolter 15 ml de gaz dans celle de 25 ml

g. Ferme les valves du shaky et de la seringue 25ml, placer l’aiguille, vider 6 ml de gaz pour conditionner l’aiguille puis mettre le 9ml de gaz restant dans une fiole pré-évacué.

h. Répéter l’étape g 2 autres fois pour obtenir des triplicats

i. Prendre la température de l’eau dans le Shaky à la fin des 3 réplicats et jeter l’eau en dehors du bateau

5. Prendre un échantillon d’air

a. Conditionner la seringue de 25 ml avec l’air de l’atmosphère

b. Prendre 15 ml d’air, placer l’aiguille, jeter 6 ml d’air, puis garder 9ml dans une fiole pré-évacuée (comme à l’étape 4g)

6. Noter les numéros de site sur l’aluminium des fioles

**2. Méthode headspace dans le labo (Wheaton)**

1. Collecte des échantillons sur le terrain

a. Conditionner la bouteille Wheaton 3 fois avec l’eau à échantillonner

b. Remplir la bouteille Wheaton en insérant un tube flexible dans le fond de la bouteille

c. Laisser la bouteille se remplir l’équivalent de 3 en laissant l’eau déborder hors de la Wheaton

d. S’assurer qu’il n’y a pas de bulle collée sur les parois ou dans la bouteille

e. Retirer lentement le tube flexible en laissant l’eau couler lentement pour que la bouteille reste pleine

f. Ajouter 2 µl de HgCl2 pour fixer l’échantillon

g. «Crimp-seal» l’échantillon avec les septa gris (#C402030)

h. Conserver l’échantillon au frigo jusqu’à l’analyse

prendre un échantillon d’air

2. Préparation du headspace au laboratoire

a. Sortir les échantillons 24h à l’avance pour que les échantillons soient à température pièce

b. Placer une seringue vide de 15ml avec aiguille dans l’échantillon à travers le septum

c. Placer une seringue avec 12ml d’Hélium dans l’échantillon à travers le septum

d. Siphonner 12ml d’eau d’échantillon en injectant l’hélium dans l’échantillon.

ATTENTION : il ne doit pas avoir d’hélium siphonné avec l’eau. Pour s’assurer de faire cette étape correctement, il est recommandé de travailler avec la Wheaton à l’envers ou sur le côté, l’hélium va monter dans la bouteille et ne pourra pas être siphonné dans la 2e seringue

e. Retirer les seringues et conserver l’eau dans un bécher dédié à ce type de déchet (RAPPEL : l’eau contient du mercure)

f. Brasser vigoureusement, à l’horizontal, les échantillons pendant deux heures

g. Une fois équilibrée, placer la Wheaton à la vertical et y insérer une seringue contenant 11ml d’eau et une autre vide

h. Siphonner 11 ml d’air en injectant en même temps 11ml d’eau.

ATTENTION à ne pas siphonner d’eau

i. Vider 2ml d’air et injecter les 9ml restant dans une fiole d’analyse pré-évacué

j. Noter la température de l’eau à chaque 10 échantillons

**3. Bonbonnes**

1. Installation des bonbonnes

a. Attacher solidement dans l’emplacement désigné

b. Purger un peu avec la main gauche sur le robinet de la bonbonne, la face opposée à la bonbonne pour ne pas recevoir le gaz dans la face

c. Mettre le régulateur sur la prise de la bonbonne (vérifier le bon CGA) et visser fermement à l’aide d’une clé à molette

ATTENTION les gaz inflammables (p. ex. P5 et Air) se visse et dévisse dans le sens contraire à la normalité; ils ont des coches sur leur valve CGA

d. Si le tube de cuivre est défait du régulateur, le refixer, après avoir mis à nouveau du ruban en téflon pour éviter les fuites de gaz

e. Dévisser la grosse valve du régulateur (decrease) pour ne pas endommager le diaphragme du régulateur et ouvrir complètement la petite valve du régulateur

f. Ouvrir lentement le robinet du cylindre de gaz (regarder les cadrans du régulateur pour éviter d’aller trop vite)

g. Augmenter lentement la pression dans le tuyau à l’aide de la grosse valve du régulateur (Increase), jusqu’à la pression désirée, soit

i. N2 = 400 kPa ou 60 PSI

ii. P5 = 30 kPa

iii. Air = environ 4 kPa; ajuster avec le débitmètre

iv. Standards : garder fermés sauf lors de l’utilisation; sinon, mettre assez de pression pour que le gaz sorte aisément

h. Attendre au lendemain (minimum) avant de faire des mesures

2. Changement des bonbonnes

a. Quand la pression interne est environ à 300 kPa, fermer le GC et attendre que la température baisse (< 100 °C pour les détecteurs, injecteur et colonne) avec les détecteurs à off (VOIR procédure de fermeture du GC plus loin)

b. Fermer le régulateur (grosse valve à decrease et petite valve fermée)

c. Fermer le robinet de la bonbonne

d. Dévisser le régulateur de la bonbonne vide et le revisser sur la bonbonne ouverte, le plus rapidement possible, après avoir purgé un peu de son air

e. Refaire la procédure de mise en place de la bonbonne

f. Attendre au moins 1 heure avant de repartir le chauffage des détecteurs

g. Attendre 1 heure de plus (une fois que les températures sont atteintes)

h. Attendre au lendemain (minimum) avant de faire des mesures

3. Divers

a. Lorsque le GC est en veille, baisser la pression interne du N2, de 60 PSI à 20 PSI

4. Gaz

a. N2

i. Caractéristiques : pureté de 99,999% (UHP), format K, Prix 67.66$ Livraison rapide (Praxair)

ii. Durée : si utilisation intensive (2 runs par jour en continu) : ~ 2semaines; en veille continuelle, peut durer jusqu’à ~2 mois

iii. Code sur Synchro : NI 5.0UH-K

b. P5 (5% CH4, 95% Ar)

i. Caractéristiques : standard spécifié, format K, Prix 138,16$, Livraison rapide (Praxair)

ii. Durée : devrait durer entre 6 mois et 1 an. Changer après un an si la bouteille n’est pas vide car le standard n’est plus certifié

iii Code Synchro : IG P5C-K

c. Air (air comprimé)

i. Caractéristiques : Air HCF, format K, Prix 99.36$ Livraison rapide

ii. Durée : dépend du nombre de runs effectuées (débit non continu); dure environ 3 mois avec une utilisation normale

iii. Code Synchro AI 0.0UZ-K

d. Hélium

i. Caractéristiques : Pureté 99.999% (UHP), format K, Prix 169.56$ Livraison rapide

ii. Durée : dépend du nombre de runs effectuées. Dois généralement être remplacée avec les autres standards après 2 ans

iii. Code Synchro H »5.0UH-T

ATTENTION : les standards doivent être remplacés après 2 ans même s’ils ne sont pas vides

Livraison les mardi et jeudi

N2O standard

0.3ppm N2O, balance N2

1ppm N2O, balance N2

3ppm N2O, balance N2

CO2 standard

200ppm CO2, balance N2

1500 ppm CO2, balance N2

10 000 ppm CO2, balance N2

**4. Comment passer les échantillons**

1. Délai entre échantillonnage et analyse

Idéalement, les échantillons devraient être analysés le plus rapidement possible. Toutefois, on considère (tests effectués à IES) qu’une attente de 3 mois ne sera pas dommageable. Même avec plus d’attente, l’effet n’est pas trop pire, mais les coefficients de variation risquent d’augmenter.

Si on s’attend à ce que les écarts entre les stations soient grands, l’effet de l’entreposage ne devrait pas être trop important

Si on s’attend à de petites différences, il vaut mieux faire l’analyse rapidement

2. Préparer l’instrument (GC et autosampler)

Ouvrir l’instrument après la mise en veille

a. Augmenter la pression interne de la bonbonne de N2 de 20 PSI à 60 PSI

b. Allumer l’Autosampler (bouton à l’arrière droite). Sauter (SKIP) et ignorer (IGNORE) les premiers menus. Ajuster la date et l’heure. Mettre l’appareil sur AUTO (sinon il ne quittera pas le mode STANDBY pour devenir READY)

c. Augmenter le débit du GC de 1 à 40ml (touche FLOW du GC).

d. Augmenter le Make-up flow du TCD de 5 kPa à 75 kPa. Utiliser la roulette en haut de l’appareil sous la gauge de pression. La pression de l’ECD devrait être autour de ~25 kPa

e. Attendre une heure, en vérifiant périodiquement que les pressions et restent aux valeurs fixées. VÉRIFIER que les détecteurs ne sont pas en marche

Menu DET

ECD et TCD à OFF

f. Mettre l’UPS (le powersupply noir à droite) en bypass manuel (peser sur les boutons 9 et 10 [gros bouton gris à l’avant] durant 10 secondes) et partir le chauffage du GC

Menu SYSTEM

Option Start GC

Une fois les températures atteintes, remettre l’UPS en mode normal (peser à nouveau sur les boutons 9 et 10 durant 10 secondes) et attendre une heure

g. Mettre les détecteurs en marche. Attendre au LENDEMAIN avant de passer des échantillons

Menu DET  
 ECD et TCD à ON

Ouvrir l’air (quand prêt à passer les échantillons)

a. Avant de préparer les standards, ouvrir l’air pour l’assécheur du GC et connecter le débitmètre (tube transparent avec une bille à gauche du GC). Ajuster la pression de l’air à l’aide de la petite valve du régulateur pour que la bille oscille aux environs de 15 (200 ml min-1); mieux vaut que le débit soit plus près de 20 que sous 15

b. Idéalement, ouvrir l’air 30 minutes avant le début de la run afin que le débit soit stable

Configurer EZ-Start (le logiciel du GC sur l’ordinateur à droite)

a. Ouvrir l’ordinateur et partir EZ-Start (raccourci sur le bureau)

b. Générer une séquence dans EZ-Start

File -> Sequence -> Sequence Wizard

Menu *Methods* : rien à change si «[…]TCD-ECD HS.met», appuyer sur «suivant»

Menu *Unknows* :

Sample ID : rien à ajouter pour l’instant

Data file : Date and Time (option <D>)

Data path : indiquer le nom du fichier et le dossier pour enregistrer les résultats

Number of unknows in sequence : nombre d’échantillons + standards (donc nombre total de fioles)

«Calibration» : ne rien changer, appuyer sur «suivant»

Terminer

c. Durant l’étape de désignation des échantillons, on peut lancer un preview de la ligne de base (faire STOP avant de lancer *run*) afin de voir si l’instrument est stable (voir Annexe : Notes EZ-Start)

d. Nommer les standards et les échantillons dans la colonne «sample ID» selon l’ordre de placement dans l’autosampler.

ATTENTION les valeurs des standards sont approximatives lors de l’achat. Vérifier la concentration sur la bouteille.

ATTENTION mettre un nom d’échantillon représentatif, pas juste «Sample 1, Sample 2»

e. Enregistrer la séquence en donnant ce format au nom de la séquence

File -> Sequence -> Save

Date\_projet\_échantillonneur (p. ex. 2017-07-23\_Mer-du-Labrador\_Richard-LaBrie)

f. PARTIR LA SÉQUENCE

Cliquer sur l’icône avec deux flèches vertes en haut («Run the sequence»)

Vérifier le nom de la séquence et s’assurer que les options PRINT ne sont pas cochées

Cliquer sur «Start»

g. Attendre que EZ-Start soit prêt à acquérir, c’est-à-dire que les deux fenêtres d’acquisition des détecteurs (ECD et TCD) apparaissent à l’écran et que la mention «waiting for trigger» apparaissent en bas de l’écran. EZ-Start attend maintenant l’information du GC

Configurer l’autosampler

a. Choisir le numéro de départ pour le premier standard

Touche A/S (le nombre en surbrillance indique où vous êtes dans le menu)

Appuyer sur «Enter» sur le clavier bleu de l’autosampler et entrer la position de départ désirée puis appuyer sur Enter

ATTENTION Le carrousel ne peut pas se déplacer beaucoup. Choisir un emplacement de départ près de sa position actuelle

Appuyer sur F3 pour être dans «Fin» et indiquer le numéro de fin pour le dernier standard

b. L’autosampler n’a que 50 places

c. Si la run est plus longue que 50 échantillons, passer les premiers échantillons, remplacer les par ceux les suivants dans la run (#51, #52, etc.) et remplacer la position de fin. L’autosampler continuera jusqu’à ce nouveau numéro de fin (suivre les étapes dans a.)

ATTENTION Ne pas changer le numéro de début

ATTENTION Ne pas se tromper en changeant le numéro de fin, il doit être plus petit que la position actuelle du carrousel

d. Quitter le menu A/S pour retourner au menu principal, sinon l’appareil ne fera pas un suivi adéquat des températures et des délais pourraient survenir

e. Placer les échantillons dans le carrousel et attendre que les autres instruments soient configurés

Configurer le GC

a. S’assurer que les températures sont constantes

Menu MONIT

TEMP NON

b. Mettre les détecteurs à zéro

Menu MONIT

Fonction ZERO ADJUST [bouton F3] sur les deux détecteurs. La touche MONIT permet de passer d’un détecteur à l’autre

c. Partir l’autosampler en utilisant la fonction START puis en appuyant sur YES à l’option «Are applicable GC times correct?».

NOTE : Même si les temps ne correspondent pas aux temps réels, l’autosampler attendra le signal du GC avant d’envoyer l’échantillon suivant

d. Referme le couvercle en plastique de l’autosampler

e. On peut s’assurer que les temps sont bons en vérifiant que EZ-Start a fini d’acquérir un échantillon avant que l’information du suivant lui arrive

f. Il est normal que les chromatogrammes terminés disparaissent de l’écran. Pour les voir, utiliser le programme EZ-Start OFFLINE (menu démarrer).

NOTE : Ce programme hors connexion possède pour d’options

**5. Comment terminer une run et fermer l’instrument**

1. Attendre que la run soit terminée sur les trois composantes (GC, autosampler et EZ-Start) puis fermer l’air

a. Autosampler à READY

b. GC avec lumière READY vert aussi, pas bouton ready en train de clignoter

c. EZ-Start a complété ses acquisitions : le dernier chromatogramme devrait rester à l’écran une fois terminé

d. Si pas d’autres runs pour la journée : fermer l’air en dévissant le tube du débitmètre et en mettant le bouchon (s’assurer de le septum est à l’intérieur)

e. Si d’autres runs dans la journée : garder l’air ouvert et attendre 1h30 à 2h avant de lancer une nouvelle run. Idéalement, ne pas faire plus de 2 runs par jour

2. Mettre en veille si nécessaire (si d’autres runs le lendemain)

a. Fermer les détecteurs

Menu DET

ECD et TCD à OFF

b. Fermer le GC

Menu GC -> STOP GC

La fan devrait fonctionner à fond jusqu’à ce que la température de la colonne soit <40°C puis s’arrêter. Pas besoin de toucher à l’UPS (la boîte noire à droite).

c. Attendre que toutes les composantes aient refroidies T < 100°C, plus froid si possible. Pour voir la température des composantes

Menu MONIT

TEMP MON

d. Baisser le débit à 1ml, le make-up du TCD à <10kPa et la pression de sortie (cadran de gauche) du cylindre de N2 à 20 PSI. Ne pas toucher au make-up de l’ECD (P5)

Menu Flow -> 40 ml à 1ml

Roulette en haut de l‘instrument

e. Revenir périodiquement pour s’assurer que les pressions et flow sont maintenus et pour s’assurer que le niveau interne (cadran de droite) de N2 < 300 PSI; lorsque ce niveau est atteint, changer la bonbonne, même si l’instrument est en veille

**6. Analyse des résultats dans EZ-Start**

1. Visionnement des chromatogrammes

a. Ouvrir les chromatogrammes un à un afin de vérifier la qualité de l’intégration

File -> Data -> Open

NOTE : Un nom qui décrit clairement chaque échantillon est très utile à cette étape

b. Si l’intégration est de mauvaise qualité, utiliser la fonction «peak integration» pour tenter d’améliorer l’intégration en prenant soin de choisir la bonne fnêtre en haut (ECD ou TCD) puisque cela détermine quel chromatogramme sera modifié

i. Treshold : défini la pente minimale pour considérer un pic. On pourra augmenter la valeur pour faire en sorte qu’un pic commence plus tard

ii. Minimum area, width : ne devrait pas être à changer

iii. Integration off : coupe l’intégration entre certaines valeurs. Utile pour définir quand le pic commence et quand il finit asi les autres options ne marchent pas. Utile aussi pour éliminer l’intégration de pics inintéressants au début et à la fin

iv. Tangent skim : utile si pic d’intérêt est situé sur la courbe descendante du pic d’air et qu’on veut corriger la ligne de base utilisée

c. Si l’intégration est modifiée et doit être enregistrée, le faire en pressant le bouton avec une calculatrice en haut (ANALYZE). Le chromatogramme devrait changer et les valeurs associées aussi

ATTENTION : Les paramètres utilisés pour un chromatogramme sont conservés pour le prochain et peuvent être inadéquats. Toutefois, tant qu’on ne touche pas la touche calculatrice (ANALYZE), il n’y aura pas de modification des valeurs pour les autres chromatogrammes consultés

d. Enregistrer les nouveaux paramètres au besoin s’ils sont pertinents pour tous les chromatogrammes. Sinon, on préserve les paramètres de base qui sont plus fréquents

File -> Method -> Save

e. Quitter EZ-Start

2. Chercher les valeurs brutes

a. Ouvrir le dossier EXPORT DATA sur le bureau

b. Ouvrir les fichiers TCD-ECD HS-ECD.height (hauteur de l’ECD, CO2) et TCD-ECD HS-TCD.height (hauteur du TCD, N2O). Ces fichiers s’ouvrent avec Excel

c. Les valeurs les plus récentes sont dans le bas du fichier

NOTE : Un nom qui décrit clairement chaque échantillon est très utile à cette étape

ATTENTION : Les chromatogrammes recalculés se trouvent à la fin du fichier, les valeurs ne sont pas remplacées à leur ligne correspondante

d. Copier les informations pertinentes (ID, ECD et TCD) dans un fichier excel pour archivage des données

**7. Analyse des résultats dans R**

1. Préparation des données

a. Dans le *template N2O-CO2.Gabarit.xlsx*, entrer les valeurs ID, TCD, ECD, Température *in situ*, Température du Shaky ou des Wheaton, Salinité et Pression atmosphérique à l’échantillonnage (dans cet ordre)

NOTE : R n’accepte pas les «,», utiliser des «.»

b. Incorporer les données dans R

c. «Sourcer» le fichier *GazConcentration.R*

d. Lire attentivement les consignes en en-tête de ce fichier, elles indiquent comment utiliser le script

BRIÈVEMENT

i. Rouler une première fois la fonction pour obtenir les valeurs de N2O et CO2 en ppm dans l’air

ii. Rouler une deuxième fois la fonction en indiquant dans l’appel de la fonction les valeurs moyennes de N2O et CO2 en ppm dans l’air

iii. La fonction générera à la fin les valeurs de N2O et CO2 corrigée en

à saturation si l’eau et l’air sont à l’équilibre (nM)

nM

Le CO2 devrait en X0 000 (dizaine de millier), on peut transformer en µM ensuite

concentration air :eau (nM)

concentration air :eau (ppm)

Sursaturation (%)