

Naturstyrelsens Referencelaboratorium for Kemiske Miljømålinger

NOTAT

Til: Styregruppen for Naturstyrelsens Referencelaboratorium

CC:

Fra: Maj-Britt Fruekilde

Dato: 24. oktober 2013

QA: Ulla Lund

Emne: Litteraturstudie vedrørende bestemmelse af methan i drikke- og grundvand

Nærværende notat har til formål at tydeliggøre baggrunden for udarbejdelse af et metodedatablad for bestemmelse af methan i drikkevand, grundvand og ferskvand.

Indledning

Methan er primært produkt af anaerob nedbrydning af organisk stof under methanogenese. Opløst methan indikerer anaerob mikrobiel aktivitet i overflade- og grundvand. Det er også vist, at chlorerede hydrocarboner reduceres og dechlorineres til methan, ethylen eller ethan i et iltfri miljø. Yderligere er signifikante mængder af C1-C2 hydrocarboner (methan og ethan) til stede i partikelemission fra ufuldstændig forbrænding af fossile brændstoffer. Hydrocarboner i forurenede luft kan afsættes i overfladevand, hvilket forårsager vandforurening særlig i bymæssige områder.

Metoder til bestemmelse af methan

På det danske marked er der 5 laboratorier (AnalyTech Miljølaboratorium, Højvang Laboratorier, ALS Danmark (tidligere Milana), Force Technology (tidligere LabVest) og Eurofins Miljø), som er akkrediteret til at udføre analyse for methan i drikkevand og grundvand. Laboratorierne henviser alle til, at de anvender egne metoder som referencemetoder. En forespørgsel blandt de 5 laboratorier har vist, at 4 ud af 5 laboratorier anvender headspace teknik og GC-analyse, mens det 5. laboratorium anvender direkte injektion af vandprøven ved GC-analyse.

Der eksisterer pt. ikke en standardmetode til bestemmelse af methan i grund- og drikkevand, men der er publiceret videnskabelig litteratur vedrørende måling af methan. Referencelaboratoriet ønsker på baggrund af eksisterende publikationer at udarbejde en beskrivelse af principper for bestemmelse af methan i grund- og drikkevand.

En sammenstilling af publicerede metoder til bestemmelse af methan er vist i bilag A, og de er opsummeret nedenfor.

Headspace teknikker

Headspace ligevægt metoder er de mest udbredte teknikker for måling af opløste gas i vand. Kvantificering af opløst gas i vand ved headspace ligevægt er baseret på Henry's lov, der etablerer ligevægt mellem gassens opløselighed og partialtryk ved en given temperatur. De fleste gasser er kun lidt opløselige i vand, og derfor er vand/gas ligevægten ofte favoriseret mod gasfasen, hvilket gør det lettere at detektere gassen i headspacen i forhold til

væskefasen. Headspace ligevægt metoden involverer typisk måling af koncentration af gas ekstraheret fra vand, som er bragt i ligevægt (under omrøring) med en luft- eller nitrogenfyldt headspace. Selvom headspace ligevægt metoder er simple, pålidelige og vidt anvendte metoder, er de tidskrævende og har nogle ulemper. Headspace ligevægt metoden afhænger af præcis bestemmelse af gas koncentration i headspace ved ligevægt. GC-analyse kan ikke udføres on-site, hvilket medfører signifikant forsinkelse mellem prøvetagning og GC-analyse. Headspace teknik kan udføres som hhv. dynamisk og statisk headspace.

Ved dynamisk headspace teknik, gennembobles en vandprøve kontinuerlig med en inert gas (fx helium eller nitrogen af høj renhed). Analytterne opsamles på et sorbent, desorberes termisk og overføres til en GC for analyse. Dynamisk headspace teknik giver normalt bedre følsomhed for VOC'er end statisk headspace, men C1-C2 hydrocarboner er svære at "fange/binde" på sorbenter pga. deres høje flygtighed ved stuetemperatur (dette kan dog forbedres ved nedkøling med flydende nitrogen).

Ved statisk headspace teknik, fjernes en andel af vandet fra et lukket glas, og et defineret headspace volumen dannes, de to faser bringes i ligevægt. En lille fraktion af headspace tages ud med en sprøjte og injiceres på en GC for analyse. Statisk headspace teknik er meget simplere og en billigere teknik end dynamisk headspace teknik.

ASTM har i øjeblikket en testmetode til bestemmelse af opløste gasser (herunder methan) ved statisk headspace og GC-FID under udarbejdelse.

Direkte vandinjektion

GC-analyse kan også udføres ved direkte injektion af den vandige prøve. Denne teknik kan dog give nogle udfordringer: 1) vandprøver danner store volumener af vanddamp i gaskromatografen, og det er en langvarig proces at komme af med dampen via kolonnen. 2) pga. vandets polaritet, er kolonnen stort set ikke-fugtbar, hvilket gør vand til en dårlig solvent mht. dannelse af en solvent film, som er nødvendig for at opnå en skarp og veldefineret top i kromatogrammet. 3) vand kan have en ugunstig effekt på deaktiveringslaget af kolonnens stationære fase, pga. hydrolyse af siloxan grupper. 4) vand er ikke forenelig med de fleste flamme baserede detektorer (dvs. FID skal gentændes efter eluering af solventtoppen) 5) en yderlig ulempe ved direkte injektion af vand på GC er, at salt og ikke-flygtig matrice komponenter introduceres i GC systemet, hvilket medfører forringelse af systemets performance /1/. Nogle af ovenstående udfordringer kan dog minimeres ved at injicere et meget lille volumen prøve samt anvende en GC-kolonne, hvis stationære fase ikke påvirkes af injektion af vand /2/. Det har ikke været muligt at fremskaffe litteratur vedrørende bestemmelse af methan ved direkte vandinjektion.

Andre teknikker

Udover kromatografi, er brug af spektroskopisk teknik for måling af methan i vand blevet rapporteret. De spektroskopiske teknikker har fordele i at være simple og transportable. Imidlertid er de påvirkelige for interferenser, så som brede absorptionsbånd for vand og mangel på kapacitet til at skelne mellem forskellige slags af hydrocarboner.

Prøvetagning og opbevaring

Prøvetagning og opbevaring af vandprøver inden analyse af flygtige komponenter kan være vanskelig. Det er essentielt, at vandprøven udtages på en sådan måde, at den tydeligt reflekterer den aktuelle koncentration i vandet. Det er vigtigt at overveje hvilke materialer pumper, opsamlere, udløbsslanger, opbevaringsbeholdere er fremstillet af, og vælge materialer som påvirker prøven mindst mulig (såvel mht. kontaminering og tab). Der kan være betydeligt tab af gas ved diffusion gennem slanger og beholdere.

Grundvandsprøver fra overfladiske dybder er simple at udtage, hvorefter vandprøven forsigtigt overføres til et rent septumglas eller skruelågsglas. Eller prøven udtages ved at trække vandprøven gennem en teflon slange med en peristaltisk pumpe. For prøvetagning nede i store dybder, må ikke-kontaminerende dykpumper benyttes til at pumpe vandprøven direkte ind i prøveglasset. Ved prøvetagning i brønde, er det vigtigt at sikre sig, at den udtagne vandprøve er repræsentativ for det givne grundvandsmagasin (dette opnås ofte ved at forpumpe monitoringsbrønden inden prøvetagning) /3/.

Ud fra litteraturen kan det ikke entydigt afgøres, om der er behov for at konservere vandprøver til bestemmelse af methan. Konservering med syre til $\text{pH} < 2$ beskrives i flere artikler /4,5,6/, mens anden litteratur ikke tager stilling til evt. behov for konservering /7/. ISO standard vedrørende konservering og håndtering af vandprøver (DS EN ISO 5667-3 /8,9/) har ingen anbefalinger vedrørende evt. konservering af vandprøver til bestemmelse af methan.

Forslag til metodevalg

I bekendtgørelse 1024 er kvalitetskravet til bestemmelse af methan i drikkevand 0,01 mg/L, og det anføres samtidig, at dette svarer til den forventelige detektionsgrænse. Litteraturstudiet (se evt. bilag A) viser at flere metoder vil kunne efterleve dette krav, blandt andet metoder baseret på statisk headspace teknik og GC-FID /6,7/, ligeledes har 2 metoder baseret på spektroskopiske teknikker vist lovende resultater (en ny sensor, hvor måling er baseret på måling ved refraktiv index /10/ samt metode med anvendelse af måling ved infrarød tunable diode laser absorption spektroskopi /11/). Disse spektroskopiske metoder /10,11/ vil kunne anvendes til on-site bestemmelser af methan, men pt. er de anvendte setup kun prototyper. På denne baggrund vil Referencelaboratoriet på nuværende tidspunkt anbefale, at det er mest hensigtsmæssigt at basere en metode til bestemmelse af methan på statisk headspace teknik og GC-FID. Referencelaboratoriets vil udarbejde et udkast til metodetablad for bestemmelse af methan i grund- og drikkevand. Det planlægges at beskrive principper med litteraturreferencer og eksempler, men ikke at udarbejde en egentlig metodeforskrift med specifikke volumener, tider, etc. Referencelaboratoriets metodetablad vil anbefale anvendelse af statisk headspace teknik og GC-FID, men være åben over for, at andre metoder end denne kan være anvendelige, forudsat at de giver sammenlignelige resultater.

Referencer

1. Mol, Janssen, Cramers, Vreuls, Brinkman, Trace level analysis of micropollutants in aqueous samples using gas chromatography with on-line sample enrichment and large volume injection, J. Chromatogr. A, 706, 277-307, 1995.
2. Kuhn, Water injections in GC – How wet can you get? LCGC ASIA PACIFIC, 5, 3, 30-32, 2002
3. Edwards, 4th International mine water congress, Potential hazards resulting from the presence of methane dissolved in groundwater, 1991
4. Standard Operation Procedure, Sample Preparation and calculation for dissolved Gas Analysis in water samples using GC headspace equilibration technique, RSKSOP-175, rev. 2, 2004.
5. US EPA, Region 1 – New England, Technical Guidance for Natural Attenuation Indicators: Methane, Ethane, and Ethene. Revision 1, 2002
6. Kampbell and Vandegrift, Analysis of dissolved methan, ethan and ethylen in ground water by standard gas chromatographic technique. J. Chromatogr. Sci, 36, 253-256, 1998
7. Lomond and Tong, Rapid analysis of dissolved methan, ethylene, acetylene and ethane using partition coefficients and headspace-gc chromatography, J. Chromatogr. Sci., 49, 469-475, 2011

8. DS/EN ISO 5667-3: Vandundersøgelse – Prøvetagning – Del 3: Konservering og håndtering af vandprøver, 2012.
9. DS/EN ISO 5667-3: Vandundersøgelse – Prøvetagning – Del 3: Retningslinjer for konservering og transport af vandprøver, 2004
10. Boulart, Mowlem, Connelly, Dutasta, German, A novel, low-cost, high performance dissolved methane sensor for aqueous environments, Optical Society of America, 16, 12607-12617, 2008.
11. Sepulveda-Jauregui, Martinez-Cruz, Strohm, Anthony, Thalasso, A new method for field measurement of dissolved methane in water using intrared tunable diode laser absorption spectroscopy, Limnol. Oceanogr.: Methods, 10, 560-567, 2012

Bilag A: Oversigt over metoder til bestemmelse af methan i vandprøver.

Analyse-princip	Reference	
Statisk headspace og GC-FID	1	Princip
		Statisk headspace, GC-FID, bestemmelse af koncentrationer af opløst methan ud fra Henry's lov
		Prøvetagning
		Tilsæt 2 dråber af 1:1 HCl eller H ₂ SO ₄ til et glas og tilføj vandprøven ved roligt at hælde prøven ned af glassets side (undgå dannelse af bobler), glasset fyldes helt (ingen headspace) og lukkes hurtigt. Udtag 2-3 ens prøveglas (dog 3-4 for felt dobbeltbestemmelser og 4-5 glas til matrixspike).
		Opbevaring
		Prøven afsendes på is. Opbevares på køl indtil analyse, holdbar op til 14 dage.
		Prøveforberedelse
		En inert gas (He eller N) injiceres i glas indeholdende vandprøve, hvorved der dannes et kendt volumen af headspace (10% eller mere) (foregår ved konstant temperatur). Den fjernede mængde af vand kan enten måles med sprøjten eller ved vejning. Prøven rystes ved 1400 rpm i mindst 5 min, for at danne ligevægt mellem væske og headspace. En andel af headspacen (mindst 300 µl) injiceres i en GC med en pakket kolonne eller en kapillar kolonne med cryo-fælde. Injektionsvolumen skal være konstant for prøver og standarder med mindre prøven overstiger den højeste standard (så kan der injiceres et mindre volumen). Lufttætte sprøjter benyttes ved overførsel af headspace.
Statisk headspace og GC-FID	1	Kalibrering
		Standardkurve indeholdende mindst 4 standarder anbefales. Den laveste standard skal være på niveau med kvantificeringsgrænsen eller lavere. Fremstil en linear kalibreringskurve med koncentration (ppmv) vs areal gennem origin. Koncentrationen af gas i vandprøven bestemmes ved brug af Henry's lov. (Koncentrationen af gas i væsken er proportional med partialtrykket af gassen over væsken).
		QC
		Kalibreringskurven skal have en regressions koefficient (r^2) større end 0,995, og den laveste gas standard skal have et signal/støj forhold større end 5. Midtpunkts kalibrering udføres hver 4 time eller efter 25 prøver (evt oftere i sidste del af sekvensen). Acceptkriterie for kalibreringstjek er mindre end 20% forskel til den sande værdi. Laboratorieblindprøve, som håndteres fuldstændig som vandprøver i laboratoriet, acceptkriterie er methan <0,1 mg/L. Feltblindprøver, blindprøver som håndteres fuldstændig som vandprøver, men som yderligere omfattes procedure i forbindelse med prøvetagning og transport, acceptkriterie er methan <0,1 mg/L. Felt-dobbeltbestemmelser, 2 separat udtagne prøver som håndteres ensartet gennem felt og laboratorieprocedurer, giver et mål for præcision, acceptkriterie er mindre end 30% forskel. Matrix-spike: Dan headspace i 2 identiske vandprøver, hvorefter den ene prøve spikes med 100-500 µl standard. Den spikede vandprøve analyseres ligesom den ikke-spikede vandprøve, acceptkriterie er genfindning mellem 80-120% Matrix-spike dobbeltbestemmelse: Dobbeltbestemmelse af matix spike, accept kriterie for genfindning skal være mellem 80-120% og overensstemmelse mellem dobbeltbestemmelserne skal være indenfor 25%. I de tilfælde, hvor det ikke er muligt at fremstille matix-spike, kan blindprøver spikes, samme accept kriterier som for matix-spike og matrix-spike dobbeltbestemmelse. En standard fra en anden producent, bør anvendes som tjek af kalibreringsstandard, acceptkriterie er mindre end 25% forskel.
		Performance
		LQ for methan 0,5 mg/L, LD for methan 0,05 mg/L
		Interferencer
		Methan er meget almindelig, og forekommer i atmosfæren. Udstødningssgas fra biler indeholder høje niveauer, derfor skal der være opmærksomhed på ikke at kontaminere prøven under transport. Fugt kan interferere på lavt niveau analyser.

Analyse-princip	Reference	
Statisk headspace og GC-FID	2	Princip
		Statisk headspace, GC-FID, bestemmelse af koncentrationer af opløst methan ud fra Henry's lov.
		Prøvetagning
		Vandprøver udtages i feltet, ved at vandet løber ned af undersiden af glasset, for at undgå omrøring af prøven. Glasset fyldes helt (ingen headspace eller bobler) og lukkes med teflon septum og metallåg. Feltprøver konserveres med 1:1 saltsyre til pH <2 eller 1% trinatrium phosphat.
		Opbevaring
		Prøven opbevares ved 4 °C, og analyseres indenfor 14 dage.
		Prøveforberedelse
		Prøven tempereres. For at danne headspace i prøveflaskerne, indsættes gennem septum en 20G nål forbundet til en 10 ml glassprøjte (sprøjten er indstillet på 0 ml). Indsæt gennem septum, en 8 cm 20G nål, som er forbundet til rustfri stålrør med en nåleventil. Det rustfri stålrør er forbundet til en to-trins regulator med helium (helium flow justeres med nåleventil til 5 ml/min). Helium presser vand ud af glasset og ind i glas-sprøjten. Mængden af vand, som presses ud af glasset skal være 10% af prøvevol. Når en passende mængde vand er taget ud af glasset, fjernes den 8 cm lange nål fra septum, herefter tages glassprøjten ud. Prøveflasken rystes 5 min (1100 rpm), og en prøve fra headspace udtages (2 ml) og injiceres på en GC med enten TCD eller FID detektor.
		Kalibrering
		En multi-level kalibreringskurve for methan fremstilles med gas concentration fra 10 til 100.000 ppm, jf ref /3/. alibreringen er stabil i op til en måned, og rekalkibrering er kun nødvendig at udføre, hvis kvalitetskriterie ikke længere holder (hvis der er problemer med kalibreringstjek, hjælper det ofte at "bage" GC-kolonnen ud 1-1½ døgn ved 180°C, og re-tjekke kalibreringstjek inden der udføres en re-kalibrering af instrumentet) /3/.
		Inden start af en analyseserie analyseres mindst en kalibreringsstandard, som tjek af kalibreringen, den analyserede standard skal ligge indenfor 15% af den forventede værdi (85-115%).
		QC
		En laboratorie reagens blind, fremstillet ligesom en prøve, skal analyseres inden analyse af vandprøver påbegyndes (benyttes til at bestemme evt. baggrund eller interferencer i det analytiske system), accept kriterie under DL.
		Kontinuerligt kalibreringstjek for hver 15. prøve, accept kriterie 85-115% af den forventede værdi.
		Dobbelt bestemmelse af hver 10 prøve, accept kriterie <20% forskel mellem bestemmelseerne.
		Kvalitetskontrol gas standard, en kalibreringsstandard fra en anden producent skal analyseres med i hver analysesekvens, accept kriterie 85-115% af den forventede værdi.
		Performance
		-
		Interferencer
		-

Analyse-princip	Reference	
Statisk headspace og GC-FID	4	Princip
		Statisk headspace, GC-FID, bestemmelse af koncentrationer af opløst methan ud fra fordelingskoefficienter.
		Prøvetagning
		Vandprøver opsamles i 250 ml VOC glas.
		Opbevaring
		-
		Prøveforberedelse
		5 ml vand udtages med pipette fra VOC glas (250ml), og låg med teflon septum sættes hurtigt på, for at sikre at glasset er lufttæt under prøveforberedelsen. Vandprøven rystes kraftigt i 2 min. Prøveglasset neddyppes herefter i 30°C varmt vandbad, og de 2 faser (headspace og væske) bringes i ligevægt, indtil prøve temperaturen er den samme som i vandbadet. Prøveglasset placeres på hovedet i vandbadet for at undgå direkte kontakt mellem headspace og septum, og at gas forsvinder via septum. Med en gas-tæt sprøjte udtages hurtigt 100 µl fra headspace og injiceres på GC-FID. Manuel injektion er benyttet i dette studie. FID er simpel og robust med et bredt linearitetsområde og en god følsomhed. GC-kolonne (Restek Rt-QPLOT) er ikke følsom overfor fugt, hvilket gør den velegnet til analyse af prøver som indeholder vanddamp.
		Kalibrering
		Kalibreringskurve fremstilles frisk hver dag. 3 punkts kalibrering benyttes, standarder fremstilles ved at fortynde initial standard i passende størrelse glasflasker (omgivelses luft benyttes til fortynding). I tilsvarende studier benyttes Henry's lov til beregning af koncentrationer af opløst methan, i dette studie benyttes fordelingskoefficienter til at beregne koncentrationer af opløst methan gas. Fordelingskoefficienterne er bestemt til at være 128 ved 30 °C for methan. Beregning af koncentration i hhv headspace og væskefase ud fra fordelingskoefficienten $K_g = C_g/C_l$. Beregning af opløst koncentration af methan på baggrund af fordelingskoefficienten er mere ligetil end beregning vha. Henry's lov, hvor mol fraktioner og partial tryk er involveret.
		QC
		Kontrolprøver spikes med en passende mængde gas. Kalibreringskurven fremstilles frisk hver dag, for at sikre kvaliteten af kalibreringen. En methan standard fra en anden producent benyttes til at verificere rigtigheden af kalibreringsstandardden. Blindprøver af hhv den omgivende luft samt deioniseret vand analyseres i hver analysesekvens. Pipetten (5 ml) kalibreres ugentlig for at sikre nøjagtighed af headspace volumen.
		Performance
		LD i hhv headspace og vandfasen er 40,4 ng/L og 1,13 ng/L. Metodens anvendelse bør dog begrænses til opløste methan koncentrationer over den omgivne lufts methan niveau (i dette tilfælde 1,85 µg/L). Metodevalidering viser mindre end 6% variation i nøjagtighed og præcision med undtagelse af methan på lavt niveau, hvor den omgivne luft interfererer.
		Interferencer
		Methan koncentration i den omgivende luft er 1,85 µg/L. Høj usikkerhed (57%) på bestemmelse af methan i lav spike (0,28 µg/L), skyldes interferens fra den omgivende luft, som har højere methan konc, end den lave spike. Et inert headspace kan dannes ved brug af nitrogen eller helium, for at eliminere interferencer pga den omgivne lufts methanindhold, dette vil dog kompleksere metodens setup.

Analyse-princip	Reference	
Statisk headspace og GC-FID	5	Princip Prøvetagning Statisk headspace, GC-FID, bestemmelse af koncentrationer af opløst methan ud fra Henry's lov. Udtagning af vandprøver (60 ml). Vand løber forsigtigt ned af glassets side, for ikke at omrystes eller danne bobler, hvilket kan få opløste gasser i vandet til at forsvinde. Glasset fyldes helt op, og flere dråber 1:1 svovlsyre tilsættes som konserveringsmiddel, glasset lukkes med låg med teflonseptum.
		Opbevaring Prøveforberedelse Glas opbevares på køl under transport, og analyseres indenfor 14 dage. Prøven tempereres til stuetemp inden analyse. Et headspace dannes ved at fjerne 10% af prøven med helium (6 ml). For at danne headspace, vendes glasset på hovedet (med bunden opad), en 20G nål forbundet til en 10 ml glassprøjte sættes gennem septum. Herefter sættes en 8 cm lang 20G nål forbundet med en teflonslange og en nåleventil gennem septum, teflon slangen forbindes med en helium cylinder, og helium sendes gennem nålen, og presser vand ud af flasken og over i sprøjten. Når 6 ml vand er overført til sprøjten tages den 8 cm lange nål ud af septum, og efterfølgende tages sprøjten ud. Prøven rystes ved 1400 rpm i 5 min, for at opnå ligevægt mellem headspace og væskefasen. 300 µl headspace udtages med en 500 µl gastæt sprøjte, og injeceres på GC'en. Temperaturen af den resterende prøve måles. Volumen af prøveglas bestemmes.
		Kalibrering Inden analyse af vandprøver og ved dagens afslutning tjekkes GC kalibreringen med mindst en standard (accept kriterie, indenfor 15% af det forventede). Det er ikke beskrevet hvordan standardkurven fremstilles, og hvor mange koncentrationsniveauer den indeholder. Koncentrationen af gas opløst i vand kan beregnes baseret på dens fordelings egenskaber, som indikeret ved Henry's lov.
		QC Feltblindprøver udtages sammen med vandprøver. Dobbeltbestemmelser, 10% af de opsamlende prøver analyseres som dobbeltbestemmelser. Inden analyse påbegyndes og ved dagens afslutning tjekkes GC kalibreringen med mindst en standard (indenfor 15% af det forventede). Yderligere analyseres en kalibreringsstandard som hver 10. prøve. Der medtages en metode blindprøve dagligt. Det er nødvendigt at fratrække areal for metode-blind-prøve ved beregning.
		Performance LQ for methan er 0,001 mg/L (1 µg/L). For methan er den gennemsnitlige genfinding 87% på 6 gentagelser, stdev er 0,64 mg/L og RSD er 3,25%
		Interferencer -
Bestemmelse af fordelingskoefficient	6	Princip Hurtig effektiv og lavpris headspace teknik anvendelig til bestemmelse af væske/gas fordelingskoefficienter
		Prøvetagning -
		Opbevaring -
		Prøveforberedelse/ Procedure Ligevægtstrin udføres i glas-sprøjter med et forhold mellem væske/gas på 1:3 efter 30 min ved fast temperatur og tryk. Det præcise volumen af væsken i sprøjten bestemmes ved vejning. Ligevægt indstilles ved konstant temperatur (i termostateret vandbad under konstant omrøring (30 min)). Headspacen som er bragt i ligevægt med væsken udtages, ved at overføre den (headspacen) til en ren receptor-sprøjte. Volumen af headspace måles hurtig og præcist. Receptor-sprøjte opbevares 20 min ved 40 °C inden injektion på GC, for at undgå vanddamp kondensation. Vigtig, at have opmærksomhed ved alle gas målinger, på at dødvolumen af sprøjte og stophane minimeres.
		Kalibrering -
		QC -
		Performance -
		Interferencer Tjekker at væsken som bringes i ligevægt med gas-blanding ikke indeholder interferende gasser.

Analyse-princip	Reference	
Boble-stripping samt passiv sampling	7	Princip Prøvetagning Validering af forskellige prøvetagningsprocedurer, passiv sampling og aktiv sampling Procedurer til prøveopsamling, kræver enten at et specifikt vandvolumen udtages (aktiv sampling) eller diffusion af analytten ind i en enhed under vandet (passiv sampling) i en periode. Ved Boble stripping (aktiv sampling): pumpes grundvand konstant gennem en glaskolbe, som indeholder en "boble" af nitrogen eller helium, vandprøven bobler indtil ligevægt mellem den vandige fase og headspace er nået. I forbindelse med passiv sampling, har forskellige plastik enheder været benyttet: sprøjter, rør eller diffusionsposer af polypropylen eller andet semipermeabelt materiale. Enheden fyldes med inert gas (nitrogen eller helium) og nedsættes i en længere periode i et grundvandsmagasin. I denne periode vil opløst gas med lav molekylvægt såsom hydrogen og methan difundere mellem gas og væske fasen indtil ligevægt. Kvantitativ bestemmelse af hydrogen og methan i den inerte gas ved GC-analyse tillader bestemmelse af den originale konc. i vandfasen vha Henry's konstanter.
		Opbevaring Passiv sampler (sprøjte), alle gas prøver analyseres indenfor 8 timer efter udtagning af sampler. Diffusionsposer transporteres nedkølet til laboratoriet. Aktiv sampler (glaskolbe) transporteres nedkølet til lab, og orienteret således at vandet forhindrer diffusion, analyse af gasfasen udføres indenfor 8 timer.
		Prøveforberedelse Udtager en andel af gassen fra hhv sprøjte, diffusionspose eller glaskolbe og injicerer på GC
		Kalibrering Kalibreringsstandarder fremstilles ved volumetrisk fortynding af rene gasser i 1 liter glaskolber fyldt med helium (typisk stdev på et enkelt fortyndingstrin er 6%, bestemt udfra 3 bestemmelse). Kalibrering udføres en gang i hver analyseserie (5 punkts kalibrering).
		QC Stabiliteten af det kromatografiske system verificeres ved analyse af en reference gas, denne måles løbende efter 8-10 prøver
		Performance Relativ stdev mellem 2 på hinanden følgende stripping forsøg viser stdev på 0,1-16% for methan. Boble-stripping metoden genfinder 50-60% af det methan niveau, der er fundet ved en direkte bestemmelse af methan indhold i en oppumpet prøve. Diffusions prøvetagning med sprøjter genfinder kun 10% (dvs ikke egnet til bestemmelse af methan, kan skyldes lav diffusion af methan gennem sprøjtes materiale).
		Interferencer -
Boble-stripping samt passiv sampling	8	Princip Prøvetagning Boble-stripping og GC-FID analyse, optimering af flowhastighed og flowtid for at opnå ligevægt ved boble stripping. Stripping proceduren involverer at glaskolben påfyldes den vandige opløsning som skal analyseres, og derefter tilføres 20 ml luft for at danne et headspace. Kolben placeres i en 45° vinkel (i forhold til horisontal). En peristaltisk pumpe (upstream (dvs efter kolben)) benyttes til at pumpe vandprøven gennem kolben, således at vandet strømmer gennem headspace og giver bevægelse i vandprøven. Under gennemstrømningsprocessen foregår fordeling af opløst gas mellem de 2 faser, og evt ligevægt er nået. Studiet benyttes til at optimere flowhastighed for vandet som pumpes gennem kolben, samt undersøge minimum flowtid for at opnå ligevægt. (Desuden undersøges variende temperaturs effekt på ligevægstiden for hydrogen.)
		Opbevaring -
		Prøveforberedelse Boble-stripping, og efterfølgende GC analyse af headspace fra glaskolbe, hvorfra koncentrationen af methan i vandprøven kan bestemmes udfra Henry's lov.
		Kalibrering Standarder fremstilles ved at fortynde methan blanding (100 ppm i nitrogen) ned i en lukket serumflaske indeholdende nitrogen. En serumflaske fyldt med nitrogen, fremstilles ved at placere flasken i et kar med vand renset ved omvendt osmose. Flasken fyldes fuldstændig med vand og vendes omvendt, således at nitrogen kan bobles ind i den. Når flasken er fyldt med nitrogen, lukkes den med et gummi septum. Standarder fremstilles ved at fjerne en mængde nitrogen fra flasken svarende til den mængde 100 ppm methan blanding som skal tilføres. Den ønskede mængde methan mix injiceres i serumflasken, flasken står 1 h før analyse på GC. Gastætte sprøjter benyttes til alle procedurer.
		QC -
		Performance Resultater fra forsøg viser at flowhast på 400ml/min gennem prøvekolbe er optimal. En flow tid på 10 min er tilstrækkelig for ligevægt mellem faserne for methan. Flowhastigheder <300 ml/min giver ikke tilstrækkelig omrøring, som er nødvendig for at opnå ligevægt indenfor en rimelig tid. (Ingen information omkring LD og evt genfindning i forhold til prøver udtaget direkte).
		Interferencer -

Analyse-princip	Reference	
Test af beholder til udtagning af vandprøver i forskellige dybder.	9	Princip
		Prøvetagning
		Opbevaring
		Procedurer / Prøveforberedelse
		Kalibrering
		QC
		Performance
		Interferencer

Test af beholder til udtagning af vandprøver i forskellige vanddybder.

En beholder installeret med en gastæt inlet ventil og en to-vejs outlet kugleventil, forbundet med en flytbar peristaltisk pumpe (til opsamling af vandprøver uden atmosfære kontakt og tab af opløste gasser) (dvs prøven udtages uden at passere den peristaltiske pumpe). Et headspace dannes ved at placere en silicone slange lukket i begge ender med gummipropper inde i beholderen.

-

Undersøgelse af purge tid, for at udskifte vand i beholder med miljøprøve-vand. Dette undersøges ved at hanevand i beholderen tilføres 2 dråber FDA blue 1 dye. Beholder forbindes med pumpe, og vand trækkes gennem beholderen i hhv. 30, 60, 90, 120 og 180s og tilbageværende FDA blue 1 dye bestemmes ved absorbans måling v. 610 nm. (Resultat: efter ca 72s pumpning er ca 1% af "dye" tilbage i beholderen, dvs 5 min pumpning er mere end nok til at purge beholderen med miljøprøve-vand.)

Undersøgelse af, hvor lang tid som er krævet for at methan er i ligevægt over silicone membranen, gasprøver udtages med 1h intervaller i 0-8h. Omgivelsesluft fungerer som nul-reference. Forsøget gentages 3 gange for at bestemme ligevægtstiden. (resultat: ligevægtstiden var mindre end 8h for methan).

Methan analyseres ved injektion af prøve headspace på GC-FID, og koncentrationen i vandprøven bestemmes på grundlag af Henry's lov

Kalibrering foretages overfor en 5000 µg/L standard af methan i N₂, som analyseres før og efter en prøveserie.

-

-

-

Analyse-princip	Reference	
Raman spektroskopi	10	Princip Bestemmelse af methan koncentration vha. Laser Raman spektroskopi. Raman spektroskopi er anvendelig for in situ geokemiske analyser af gasser, væsker og faststof i ekstreme omgivelser, hvilket har stort potentiale i dybtvand hydrotermiske område, hvor høj temperatur væsker, enten er for varme for kontakt analyser eller ændrer sig, når de bringes til overfladen for at blive analyset.
		Prøvetagning -
		Opbevaring -
		Procedure / Prøveforberedelse Laboratorieforsøg er udført med brug af Raman spektroskopi til bestemmelse af CH₄ opløst i vand og havvand. Raman intensiteten påvirkes af den optiske vej, derfor kan tophøjde eller areal ikke sammenlignes direkte fra en måling til den næste. Derfor benyttes top-forhold til beregning af den relative koncentration, da top-forhold er uafhængig af optisk vej, exposure tid og andre eksperimentelle faktorer. Opløst CH₄ er karakteriseret med bånd på 2911 Δcm^{-1}, Raman bånd karakteristisk for vand benyttes som reference og måles mellem 2890 og 3775 Δcm^{-1}. Tryk ændringer har lille effekt på Raman spektra. Salt-indhold i vandprøven har også kun lille effekt på Raman spektra. Temperatur ændringer har en større effekt på Raman spektra for vand end tryk og saltindhold.
		Kalibrering -
		QC -
		Performance LOQ er bestemt til 4 mM for CH₄. Yderligere udvikling er nødvendig for at forbedre følsomheden.
		Interferencer Høj temperatur (>250°C) medfører øget fluorescence fra urenheder i safir vinduet. Denne fluorescence er signifikant nok til at påvirke O-H båndet for vand.
Raman spektroskopi	11	Princip Bestemmelse af methan koncentration vha. Raman spektroskopi
		Prøvetagning -
		Opbevaring -
		Procedure / Prøveforberedelse Studie bekræfter egnethed af Raman spektroskopi til bestemmelse af methan i vandige væsker. Raman spektra viser dramatiske ændringer i Raman bånd for vand med ændringer i temperaturen, positionen af maximum intensitet skifter mod en højere bølgelængde og formen af båndet bliver mere asymmetrisk. CH₄/H₂O top-forholdet er ikke konstant med temperaturen. Ingen modifikationer foregår med methan båndet med øget temperatur, dvs modificeringen skyldes ændringer i vand båndet.
		Kalibrering -
		QC -
		Performance -
		Interferencer -

Analyse-princip	Reference	
Ny sensor for in-situ måling af methan (prototype)	12	Princip
		Ny sensor for in-situ måling af methan (prototype), baseret på refraktiv index (RI), hvor sensor laget (PolyDiMethylSiloxan (PDMS)) er modificeret
		Prøvetagning
		Sensoren nedsænkes i vandprøven
		Opbevaring
		-
		Procedure / Prøveforberedelse
		Detektionen er baseret på refraktiv index (RI) , hvor sensor laget (PolyDiMethylSiloxan (PDMS)) er modificeret ved inkorporering af cryptophane-A molekyler, som er følsomme og har reversibel affinitet overfor methan. Refraktiv index måles ved overflade plasmon resonance (SPR). En prototype sensor er testet med et opløst methan gas kalibreringssystem ved forskellige temperaturer og saltindhold. Laboratorie baserede resultater viser at teknikken er specifik, følsom og reversibel. Sensor laget har en stærk vand absorption, hvorfor sensoren skal nedsænkes ca 10 min i vand inden måling af methan påbegyndes (for at få et stabilt signal). Reduceret følsomhed af sensor filmen, kan skyldes en dårlig kvalitet af sensor-filmen, enten fra coatningsprocessen eller pga nedbrydning af laget over tid. Det er observeret, at sensor-filmen løsriver sig fra guld overfladen med tid, når den anvendes i saltvand. Laboratorieforsøg viste en nedbrydning af polymer sensor-film med tiden, når sensoren var placeret i vand i over 2 uger. Nedbrydning er både fysisk og kemisk. Det er muligt at modificere den kemiske sammensætning af polymer og udføre overflade behandling af guld laget for at forbedre bindingen. RI er omvendt proportional med temperaturen. Dvs store variationer i temperaturen påvirker meget signalet af sensoren. Yderligere forsøg er nødvendige for detaljeret at karakterisere temperatur effekten. Saltindhold påvirker ikke RI.
		Kalibrering
		Kalibrering af sensoren blev udført i laboratorie ved stuetemp. Temperaturen påvirker dramatisk RI målingerne. Yderligere arbejde med kalibrering af sensor ved forskellige temperatur og methan koncentrationer er nødvendige.
		QC
		-
		Performance
		DL 0,2 nM
		Interferencer
		Yderligere undersøgelser er nødvendige for at vurdere kryds-følsomheds effekter fra molekyler af samme størrelse som methan og en affinitets konstant for at inkapsling af disse (ammonium, halomethaner).

Analyse-princip	Reference	
On-site bestemmelse af methan ved HE-TDLAS	13	Princip
		Metode til on-site måling af methan, baseret på måling på headspace ligevægt vha. infrared tunable diode laser absorption spektroskopi (HE-TDLAS). Setup er pt en prototype!
		Prøvetagning Overfører 60 ml søvand til 3 stk 100 ml ligevægtsglas med en engangs polypropylen sprøjte. Ligevægtscellen (glasset) lukkes straks med butyl-gummi septum og låg. Methan koncentration i headspace måles i felten ved HE-TDLAS med følgende trin: • 4 ligevægtsceller indeholdende standard methan koncentration 0 til 20 mg/L måles for kalibrering • Ligevægtscelle med vandprøve rystes kraftigt i 10 s og placeres straks i laserstråle vejen • Et stabil GasFinder aflæsning opnåes typisk efter 5s • Registrerer 5-7 aflæsninger for hver ligevægtscelle, inden der måles på en anden ligevægtscelle (en af trippel bestemmelse) eller en anden prøve. En ny kalibrering udføres inden hver ny prøve måles.
		Opbevaring
		-
		Procedure / Prøveforberedelse
		Metode baseret på headspace ligevægt med brug af infrared tunable diode laser absorption spektroskopi(HE-TDLAS), der tillader direkte bestemmelse af opløste gasser i vand. HE-TDLAS er først testet i laboratoriet og sammenlignet med GC teknik. TDLA spektrometer er baseret på emission af en laserstråle og dets refleksion tilbage til en detektor. Tilstedeværelse af target gas molekyler langs laserstrålens vej modificerer laser spektrum, ved at absorbere lys af specifikke bølgelængder, hvilket måles af instrumentet når laser strålen returnerer. Modifikationen af laser spektrum kan bruges til at kvantificere koncentrationen af target gas med følsomhed ned til 1 ppm meter. En modificering af den almindelige åbne vej teknik, kan muliggøre måling af gas koncentration i headspace i en lukket celle. I dette studie udvikles og testes HE-TDLAS for måling af opløst methan i søer.
		Kalibrering
		-
		QC
		-
		Performance
		Sammenligning af HE-TDLAS og headspace-GC (HS-GC), viser en korrelationskoefficient mellem teknikkerne på 0,98. Hvis HS-GC betegnes som reference metoden er der en forskel på 3,6% til HE-TDLAS. Kvantificeringsgrænsen er bestemt til 13,6 µg/L. Præcisionen af HE-TDLAS vurderes ved at måle vandprøver fra 110 søer, hver 5 gange. Stdev stiger hurtigt for headspace gas koncentrationer under 1000 ppm. For at vurdere LD og LQ udføres 100 blank målinger, en gennemsnitlig methan konc på 4,5 ppm var observeret med en stdev på 14,2 ppm
		Interferencer
		-

Referencer:

- 1 US EPA, Region 1 – New England, Technical Guidance for Natural Attenuation Indicators: Methane, Ethane, and Ethene. Revision 1, 2002.
- 2 Standard Operation Procedure, Sample Preparation and calculation for dissolved Gas Analysis in water samples using GC headspace equilibration technique, RSKSOP-175, rev. 2, 2004
- 3 Standard Operation Procedure for gas analysis by micro gas chromatography, RSK-SOP-194 rev. 3, 2005
- 4 Lomond and Tong, Rapid analysis of dissolved methan, ethylene, acetylene and ethane using partition coefficients and headspace-gc chromatography, J. Chromatogr. Sci., 49, 469-475, 2011
- 5 Kampbell and Vandegrift, Analysis of dissolved methan, ethan and ethylen in ground water by standard gas chromatographic technique. J. Chromatogr. Sci, 36, 253-256, 1998
- 6 Guitart, Puigdemont and Arboix, Rapid headspace gas chromatographic method for determination of liquid/gas partition coefficients., J. Chromatogr. A, 491, 271-280, 1989

- 7 Dorgerloh, Becker, Theissen, Nehls. The quantification of hydrogen and methane in contaminated groundwater: validation of robust procedures for sampling and quantification. *J. Environ Monit.* 12, 1876-84, 2010
- 8 Kampbell, Wilson, McInnes, Proceedings of the 1998 Conference on Hazardous waste research, Determining dissolved hydrogen, methane, and vinyl chloride concentration in aqueous solution on a nanomolar scale with the bubble strip method, 1998.
- 9 Loughrin, Bolster, Lovanh, Sistani, *Applied Engineering in Agriculture*, 26, 559-564, 2010, A simple device for collection of water and dissolved gases at defined depths
- 10 Write, Qualitative and quantitative analysis of CO₂ and CH₄ dissolved in water and seawater using laser raman spektroskopi, *Applied spectroscopy*, 64, 819-827, 2010
- 11 Pironon, Grimmer, Teinturier, Guillaume, Dubessy, Dissolved methane in water: temperature effect on Raman quantification in fluid inclusions, *Journal of geochemical exploration*, 78, 111-115, 2003
- 12 Boulart, Mowlem, Connelly, Dutasta, German, A novel, low-cost, high performance dissolved methane sensor for aqueous environments, *Optical Society of America*, 16, 12607-12617, 2008.
- 13 Sepulveda-Jauregui, Martinez-Cruz, Strohm, Anthony, Thalasso, A new method for field measurement of dissolved methane in water using intrared tunable diode laser absorption spectroscopy, *Limnol. Oceanogr.: Methods*, 10, 560-567, 2012