Phương pháp phát hiện nhanh chất độc sulfur mustard trong môi trường nước sử dụng thuốc thử 4 - (4 - nitrobenzyl)pyridine

Nguyễn Minh Trí[1*], Vũ Ngọc Toán[1], Lê Hồng Minh[1], Lê Ngọc Hoan[2], Nguyễn Y Phụng[2]

[1]Viện Công nghệ mới, Viện Khoa học và Công nghệ quân sự;
[2]Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội.
[*]Email: nguyenminhtri.hkt@gmail.com
Nhận bài: 20/8/2022; Hoàn thiện: 08/11/2022; Chấp nhận đăng: 28/11/2022; Xuất bản: 20/12/2022.
DOI: https://doi.org/10.54939/1859-1043.j.mst.FEE.2022.207-212

TÓM TẮT

Sulfur mustard (SM) là một tác nhân chiến tranh hóa học gây loét da. Nó là một hợp chất gây độc tế bào thuộc nhóm tác nhân alkyl hóa. Các phương pháp truyền thống để phát hiện chất độc SM dựa trên phản ứng hiện màu thường tốn thời gian và độ nhạy thấp. Bài báo này trình này phương pháp mới để phát hiện SM trong môi trường nước. Ở điều kiện tối ưu đã thiết lập, SM được phát hiện với giới hạn phát hiện (LOD) thấp, ở khoảng 150 ppb. Kết quả định lượng với sự trợ giúp của thiết bị UV - VIS cho thấy, sự tuyến tính diễn ra trong dải nồng độ 150 ppb đến 5000 ppb với hệ số tương quan tốt (R^2 = 0,9994). Phương pháp này có thể phát triển để chế tạo bộ kít ứng dụng phát hiện nhanh chất độc loét da trong quân sự tại hiện trường.

Từ khóa: Mustard lưu huỳnh; Tác nhân hóa học loại loét da; Alkyl hóa; S_N2.

1. MỞ ĐẦU

Sulfur mustard (SM) là các chất điển hình thuộc nhóm chất độc loét da [1] và đã được sử dụng trên quy mô lớn trong Chiến tranh thế giới thứ nhất và trong cuộc xung đột Iraq - Iran năm 1983 - 1988 [2]. Chất độc SM có độc tính cao, với liều 0,15 mg/L gây tử vong trong 10 phút sau phơi nhiễm và với liều 0,07 mg/L là 30 phút, nói chung ở liều 0,07 mg/L đã có thể gây tử vong cho người trong 30 phút, do đó, SM độc hơn 5 lần so với phosgene và 10 lần đối với chlorine [3]. Chất độc này gây nhiễm độc thực phẩm, nước uống và các nguồn cung cấp khác là rất khó để xử lý. Đã có một số bộ kit phát hiện chất độc SM trong nước như bộ kit M272 Water có thể phát hiện được chất độc trong nước với độ nhạy 2,0 ppm [4]; bộ kit của Alison B. và cộng sự sử dụng tác nhân 4 - (4 - nitrobenzyl)pyridine (NBP) và một số hợp chất như thủy ngân cyanide, kim loại nhóm I và II dạng perchlorate, có khả năng phát hiện chất độc với giới hạn phát hiện tối ưu đạt được cỡ 5 ppm [5]. Tuy nhiên, theo quy định của quân đội các nước trên thế giới, nếu lượng nước uống sử dụng trung bình đối với một người lính trên chiến trường là 2L/ngày thì nồng độ tối đa cho phép của SM là 350 ppb [6], do đó, các bộ kit đã chế tạo có độ nhạy không đảm bảo để phát hiện nguồn nước nghi nhiễm. Mặt khác, các bộ kit này cho sản phẩm màu sắc kém ổn định, nhanh chóng bị mất màu cũng như chịu ảnh hưởng lớn bởi nồng độ base. Bài báo này trình này phương pháp phát hiện SM trong nước sử dụng thuốc thử NBP và kali carbonate như là base, làm giàu sản phẩm mang màu bởi dung môi toluene. LODs của phản ứng đạt được là 150 ppb (quan sát bằng mắt thường).

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất, thiết bị

Hóa chất: 4 - (4 - nitrobenzyl)pyridine (NBP) (98%, Acros), acetone (99,5%, Sigma); acetonitrile (99,9%, Merck); SM (1000 ppm, Việt Nam); DMSO (99,7%, Sigma); DMF (99,8%, Fischer); NaOH (99 - 100%, Merck); toluene (99,9%, Merck); triethylamine (TEA) (99,5%, Sigma); 1,4 - diazabicyclo[2,2,2]octane (DABCO) (99,0%, Sigma); kali carbonate (99,0%, Sigma); natri chloride (99,5%, Merck); nước cất một lần (VN).

Thiết bị: Cân phân tích điện tử Mettler hãng Toledo (Thụy Sỹ), độ chính xác ± 0,1 mg; Máy

quang phổ tử ngoại khả kiến UV - VIS Agilent - 8453, dải đo 190 - 900 nm (Mỹ); Bể rửa siêu âm Elma S100H (Đức); Tủ sấy, HN101 - 2, độ chính xác ±1 ^oC (Trung Quốc).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp chuẩn bị mẫu thử và thuốc thử

Phương pháp chuẩn bị thuốc thử NBP trong acetone/DMSO/DMF/acetonitrile: Cân chính xác lượng thuốc thử NBP cần thiết rồi chuyển vào bình định mức 100 mL, thêm acetone/DMSO/DMF/acetonitrile rồi lắc đều để hòa tan chất rắn. Thêm dung môi đến vạch mức thu được dung dịch NBP có nồng độ thích hợp để thử nghiệm.

Chuẩn bị dung dịch mustard lưu huỳnh: Dung dịch gốc 1000 ppm trong acetone được pha tiếp thành dung dịch có nồng độ 100 ppm sau đó pha thành dãy dung dịch có nồng độ thấp hơn, sau khi xác định được giới hạn phát hiện, pha dãy nồng độ để xây dựng đường chuẩn.

2.2.2. Phương pháp phát hiện chất độc SM

Mô hình thử nghiệm phát hiện chất độc SM trong nước được thể hiện trong bảng 1.

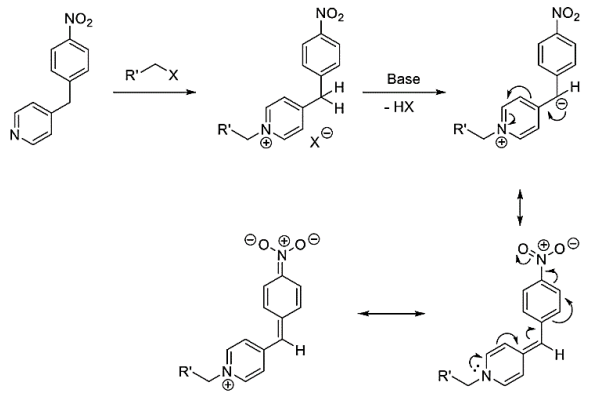
Bảng 1. *Thiết kế mô hình thử nghiệm phát hiện chất độc SM trong nước.*

TT	Dung môi	Base	Nhiệt độ (^oC)	Thời gian (phút)	Dải nồng độ thử nghiệm
1	Acetone	TEA	25 và 80$^{(*)}$	20$^{(**)}$	150 ppb - 5 ppm$^{(***)}$
		DABCO	25 và 80$^{(*)}$	20$^{(**)}$	150 ppb - 5 ppm$^{(***)}$
		K_2CO_3	25 và 80$^{(*)}$	20$^{(**)}$	150 ppb - 5 ppm$^{(***)}$
		NaOH	25 và 80$^{(*)}$	20$^{(**)}$	150 ppb - 5 ppm$^{(***)}$
2	DMSO	TEA	25 và 80$^{(*)}$	20$^{(**)}$	150 ppb - 5 ppm$^{(***)}$
		DABCO	25 và 80$^{(*)}$	20$^{(**)}$	150 ppb - 5 ppm$^{(***)}$
		K_2CO_3	25 và 80$^{(*)}$	20$^{(**)}$	150 ppb - 5 ppm$^{(***)}$
		NaOH	25 và 80$^{(*)}$	20$^{(**)}$	150 ppb - 5 ppm$^{(***)}$
3	DMF	TEA	25 và 80$^{(*)}$	20$^{(**)}$	150 ppb - 5 ppm$^{(***)}$
		DABCO	25 và 80$^{(*)}$	20$^{(**)}$	150 ppb - 5 ppm$^{(***)}$
		K_2CO_3	25 và 80$^{(*)}$	20$^{(**)}$	150 ppb - 5 ppm$^{(***)}$
		NaOH	25 và 80$^{(*)}$	20$^{(**)}$	150 ppb - 5 ppm$^{(***)}$
4	Acetonitrile	TEA	25 và 80$^{(*)}$	20$^{(**)}$	150 ppb - 5 ppm$^{(***)}$
		DABCO	25 và 80$^{(*)}$	20$^{(**)}$	150 ppb - 5 ppm$^{(***)}$
		K_2CO_3	25 và 80$^{(*)}$	20$^{(**)}$	150 ppb - 5 ppm$^{(***)}$
		NaOH	25 và 80$^{(*)}$	20$^{(**)}$	150 ppb - 5 ppm$^{(***)}$
Ghi chú		**Nhiệt kế cắm ở phần nước cách thủy bên ngoài bình phản ứng* ***Thời gian phản ứng, không tính thời gian bổ sung base* ****Dải nồng độ thử nghiệm để tìm LODs*			

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Cơ sở của phương pháp: Thuốc thử NBP chứa nguyên tử nito đóng vai trò như một nucleophile, khi tương tác với tác nhân SM phản ứng sẽ xảy ra theo cơ chế S_N2. Sau khi xử lý với base sẽ hình thành các dạng tautomer hóa và cuối cùng tạo thành hợp chất có màu để quan sát bằng mắt thường.

Cơ chế phản ứng hiện màu diễn ra như sau:



Hình 1. *Cơ chế phản ứng tạo màu của thuốc thử NBP.*

Trên cơ sở tham khảo các tài liệu, có hai điều kiện nhiệt độ được thử nghiệm là ở 25 ^{o}C và ở 80 ^{o}C trong thời gian 20 phút, sử dụng thuốc thử NBP pha trong một số dung môi ở bảng 1.

3.1. Phương pháp phát hiện sử dụng thuốc thử NBP pha trong dung môi acetone

Ở nhiệt độ 80 ^{o}C, NBP 5% pha trong dung môi acetone được chuyển vào bình cầu 3 cổ dung tích 100 mL có sinh hàn, nhiệt kế rượu 0 - 100 ^{o}C. Bổ sung thêm 2 mL dung dịch chứa chất phân tích SM với nồng độ 20 ppm. Gia nhiệt kết hợp với khuấy hỗn hợp ở 80 ^{o}C trong 20 phút. Kết thúc phản ứng, làm mát về nhiệt độ phòng, bổ sung thêm các base (TEA, DABCO, K_2CO_3, NaOH) cùng với 150 µL dung môi toluene. Dung dịch đối chứng được chuẩn bị theo quy trình trên nhưng thay thế toàn bộ thể tích dung dịch chứa chất phân tích bằng nước cất. Theo dõi màu sắc, kết quả cho thấy thu được như sau:

- Với phản ứng sử dụng TEA, mẫu blank có màu vàng rất nhạt, mẫu thử có màu vàng đậm. Tuy nhiên, tiếp tục thử nghiệm với nồng độ thấp (350 ppb) cho thấy, không có sự khác biệt giữa mẫu blank với mẫu thử. Các thử nghiệm ở nồng độ cao hơn lại cho màu sắc thay đổi (22 ppm, màu hồng nhạt; 28 ppm, màu hồng đỏ). Do đó, phương pháp này là không thích hợp.

- Sử dụng base NaOH cho mẫu blank có màu vàng nhạt, mẫu thử nồng độ 20 ppm cho màu nâu. Nồng độ thấp hơn (350 ppb) không khác biệt mẫu blank.

- Sử dụng DABCO, không có sự khác biệt giữa blank và mẫu thử.

- Sử dụng K_2CO_3, mẫu blank có màu vàng nhạt, mẫu thử có sự thay đổi màu sắc nhưng không rõ ràng. Thử nghiệm ở nồng độ cao hơn (50 ppm) cũng cho màu sắc đậm hơn không đáng kể.

Việc tăng nồng độ của NBP lên 10% cũng không thay đổi màu sắc của mẫu thử, vì vậy, với các mẫu tiến hành trong dung môi acetone, sử dụng base TEA, NaOH, DABCO và K_2CO_3 cho kết quả không khả thi. Tiến hành tương tự ở nhiệt độ 25 ^{o}C cũng cho kết quả tương tự.

3.2. Phương pháp phát hiện sử dụng thuốc thử NBP pha trong dung môi DMF và DMSO

Các điều kiện thử nghiệm được tiến hành tương tự như đối với dung môi acetone. Các kết quả được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2. *Kết quả nghiên cứu trong dung môi DMSO và DMF.*

Dung môi	Base	Nhiệt độ (^{o}C)	Thời gian (Phút)	Nồng độ thử nghiệm	Kết quả
DMSO	TEA	80	20	1,0 ppm	Không phân biệt được màu sắc mẫu blank và mẫu thử
	DABCO	80	20	1,0 ppm	Không phân biệt được màu sắc mẫu blank và mẫu thử
	K_2CO_3	80	20	1,0 ppm	Không phân biệt được màu sắc mẫu blank và mẫu thử

	NaOH	80	20	1,0 ppm	Mẫu blank màu hồng tím, mẫu thử màu tím đen (tiếp tục thử nghiệm dải nồng độ cho thấy, không tuyến tính)
DMF	TEA	80	20	1,0 ppm	Không phân biệt được màu sắc mẫu blank và mẫu thử
	DABCO	80	20	1,0 ppm	Không phân biệt được màu sắc mẫu blank và mẫu thử
	K_2CO_3	80	20	1,0 ppm	Không phân biệt được màu sắc mẫu blank và mẫu thử
	NaOH	80	20	1,0 ppm	Mẫu blank màu hồng tím, mẫu thử màu tím đen (tiếp tục thử nghiệm dải nồng độ cho thấy, không tuyến tính)

Kết quả bảng 2 cho thấy, phương pháp phát hiện SM trong dung môi DMF và DMSO cho kết quả không đáp ứng yêu cầu.

3.3. Phân tích sử dụng dung môi acetonitrile

Trên cơ sở các tài liệu tham khảo đã thu thập được và những kết quả nghiên cứu đã khảo sát ở trên, chúng tôi nhận thấy, việc tiến hành phản ứng ở 80 ^oC nếu cho màu sắc thì thử nghiệm ở 25 ^oC cũng cho màu sắc tương tự, nghĩa là nhiệt độ thử nghiệm thực tế ít chịu ảnh hưởng của nhiệt độ, do đó, chúng tôi tiến hành thử nghiệm ở nhiệt độ 25 ^oC.

Đối với base TEA, màu sắc của mẫu blank là vàng nhạt, các mẫu thử có màu hồng tím tuy nhiên chỉ tuyến tính ở vùng 20 - 28 ppm và không hiện màu ở vùng nồng độ thấp cỡ vài trăm ppb.

Đối với trường hợp sử dụng K_2CO_3, mẫu blank không màu, mẫu thử có sự thay đổi màu sắc (màu tím hồng) và tuyến tính ở dải 150 ppb đến 50 ppm. Đây là phương pháp nhóm đề tài lựa chọn được để chế tạo test phát hiện. Quy trình chuẩn bị cụ thể như sau:

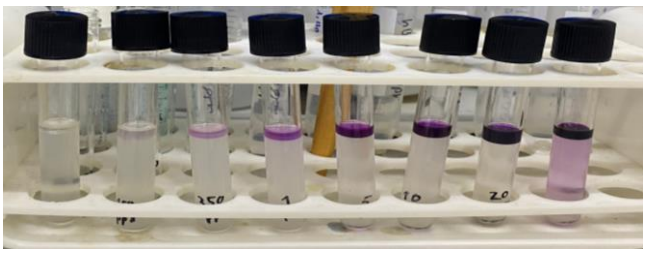
- Chuẩn bị 2 ống nghiệm thủy tinh có kích thước (12 × 100) mm. Ống nghiệm thứ nhất được bổ sung 1 mL dung dịch NBP 5 mg/mL, thêm 3 mL mẫu chứa chất phân tích, lắc đều và để yên 20 phút phản ứng. Ống nghiệm thứ hai được bổ sung K_2CO_3, NaCl và 150 µL dung môi toluene.

- Sau 20 phút, ống nghiệm thứ nhất được chuyển vào ống thứ hai, lắc mạnh đến khi phân lớp. Thực hiện tương tự với mẫu blank nhưng mẫu chất phân tích được thay thế bằng nước cất.

Kết quả cho thấy, màu sắc xuất hiện ngay lập tức, bền màu và tuyến tính. Tiến hành tiếp tục với mẫu mô phỏng mustard lưu huỳnh và mẫu mustard lưu huỳnh cho kết quả tương tự. Như vậy, phương pháp sử dụng dung môi acetonitrile, base K_2CO_3, làm giàu mẫu bằng toluene cho kết quả tốt nhất. Việc sử dụng NBP với nồng độ lớn hơn cũng không giúp cho màu sắc đậm hơn rõ rệt.

Dưới đây là hình ảnh thử nghiệm:

Hình 2. *Màu sắc của mẫu blank và mẫu chất phân tích nồng độ 150 ppb.*



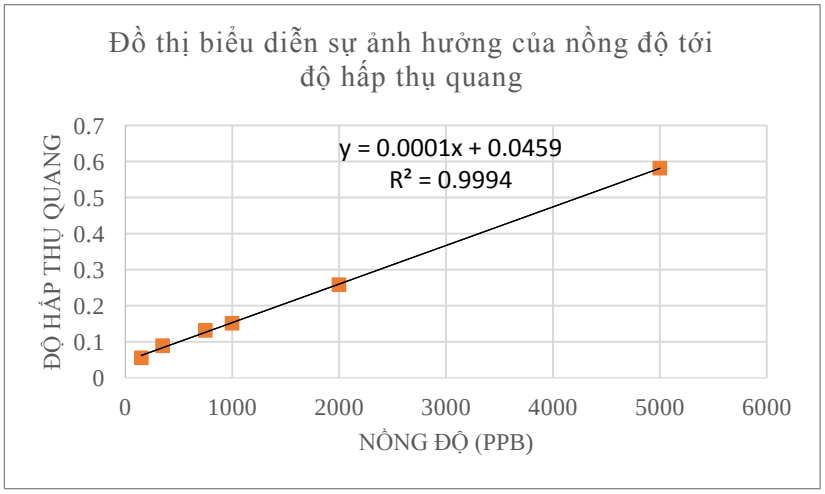
Hình 3. *Màu sắc của mẫu chứa chất phân tích ở dải nồng độ 150 ppb, 350 ppb, 1 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm và 50 ppm.*

Hình 4. *Hình ảnh mẫu blank và mẫu thử 150 ppb khi chuyển vào cuvette thủy tinh.*

Hình 5. *Hình ảnh mẫu blank và mẫu thử ở dải nồng độ 150 ppb, 350 ppb, 750 ppb, 1 ppm, 2 ppm, 5 ppm.*

Khi sử dụng base DABCO, màu sắc xuất hiện tương tự như đối với K_2CO_3, tuy nhiên, màu sắc không rõ ràng như khi sử dụng K_2CO_3.

Từ những kết quả thu được đối với dung môi acetonitrile, base K_2CO_3, tiến hành xây dựng đường chuẩn sử dụng thiết bị UV - Vis Agilent - 8453, dải đo 190 - 900 nm. Các mẫu được chuẩn bị với dải nồng độ 150 ppb, 350 ppb, 750 ppb, 1 ppm, 2 ppm và 5 ppm. Lớp toluene phía trên được chuyển ra cuvette thủy tinh có chiều dài quang 10 mm để đo UV tại bước sóng 560 nm. Kết quả xây dựng đường chuẩn thể hiện trong hình 6.



Hình 6. *Kết quả xây dựng đường chuẩn xác định mustard lưu huỳnh.*

4. KẾT LUẬN

SM trong nước đã được phát hiện bằng phương pháp sử dụng thuốc thử NBP 5 mg/mL (acetonitrile) và base là K_2CO_3. Màu sắc của dung dịch được quan sát dễ dàng bằng cách chiết lên lớp toluene. Giới hạn phát hiện của phản ứng là 150 ppb. Đường chuẩn xác định được là y = 0,0001x + 0,0459 với R^2 = 0,9994. Màu sắc của lớp dung môi chứa chất nghi nhiễm bền màu trong tối thiểu 30 phút (mẫu nồng độ < 1 ppm) và khoảng 2 giờ với mẫu > 1 ppm.

Lời cảm ơn: *Nhóm tác giả cảm ơn sự tài trợ kinh phí của đề tài cấp Viện KH - CN quân sự "Nghiên cứu cải tiến bộ phương tiện phân tích..." năm 2022.*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. F. R. Sidell et al., *"Medical aspects of chemical and biological warfare"*, The Surgeon General at TMM Publications, Borden Institute, 721 pages, (1997).

[2]. M. Balali - Mood, B. Balali - Mood, M. Moshiri, *"Sulfur mustard"*, Encyclopedia of Toxicology (Third Edition), pp. 427 – 431, (2014).

[3]. A. M. Prentiss, *"Chemicals in war"*, New York, NY, USA, McGraw - Hill Book company Inc, (1937).

[4]. Bộ phương tiện phân tích K - 54, *Hướng dẫn sử dụng*, NXB Cục Kỹ thuật, (1993).

[5]. A. Bussey, A. Clarke, J. Lambert, "*Method for detection mustard"*, WO patent 2004081561A1, (2004).
[6]. M. Weber et al., "*Determination of warfate agents (nerve agents, blisters agents, saxitoxin and ricin) in food, water and on materials and articles*", Toxichem. Krimtech., **Vol. 80**, 284, (2013).

ABSTRACT

Method of rapid detection sulfur mustard in water using 4 - (4 - nitrobenzyl)pyridine as reagent

Sulfur mustard (SM) is a vesicant chemical warfare agent. It is a cytotoxic and alkylating compound. Conventional methods of detection of chemical weapons based on chromogenic reactions are waste of time and low sensitivity. This paper presents new method to detect SM in aqueous environment. In the optimal conditions, SM was detected with low limit of detection (LOD), at about 150 ppb. Quantitative results with the help of UV - VIS equipment show that the linear response in the ranges of 150 - 5000 ppb with R^2 *= 0,9994. This method can be used to develop tests for detection of vesicant agent in the field.*

Keywords: Sulfur mustard; Vesicant chemical warfare agent; Alkylating; S_N2.