

Nghiên cứu chế tạo bộ kit phát hiện nhanh chất độc cyanide trong môi trường nước sử dụng thuốc thử *p*-nitrobenzaldehyde và *o*-dinitrobenzene

Nguyễn Minh Trí^{1*}, Vũ Ngọc Toán¹, Lê Hồng Minh¹,
Tô Phương Linh¹, Nguyễn Thị Thu Hương¹, Hoàng Hữu Anh²,
Lê Ngọc Hoan², Nguyễn Thị Kim Giang³, Đoàn Văn Bông⁴

¹Viện Công nghệ mới, Viện Khoa học và Công nghệ quân sự;

²Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHN;

³Viện Khoa học và Công nghệ, Bộ Công an;

⁴Viện Vũ khí, Tổng cục Công nghiệp quốc phòng.

*Email: nguyeminhtri.hkt@gmail.com

Nhận bài: 07/3/2023; Hoàn thiện: 21/4/2023; Chấp nhận đăng: 26/4/2023; Xuất bản: 25/6/2023.

DOI: <https://doi.org/10.54939/1859-1043.j.mst.88.2023.81-86>

TÓM TẮT

Cyanide là một tác nhân chiến tranh hóa học thuộc nhóm chất độc toàn thân. Nó là một hợp chất có khả năng phá hủy sự trao đổi oxy của tế bào, gây nhiễm độc toàn thân và dẫn đến tử vong nhanh chóng. Có nhiều phương pháp đã được nghiên cứu để phát hiện chất độc cyanide dựa trên phản ứng hiện màu, tuy nhiên, chúng thường có độ nhạy kém, thời gian phát hiện lâu và gây nguy hiểm do tiếp xúc trực tiếp với hóa chất. Bài báo này trình bày phương pháp mới để phát hiện cyanide trong môi trường nước. Ở điều kiện tối ưu đã thiết lập, cyanide được phát hiện với giới hạn phát hiện thấp, ở khoảng 50 ppb. Kết quả bán định lượng đối với mẫu thực hiện trường cho thấy, phương pháp không bị nhiễu bởi thành phần mẫu, có khả năng phát hiện cyanide trong vòng 15 phút. Đặc biệt, sau 30 phút, giới hạn phát hiện ở mức 2-10 ppb. Phương pháp này có thể phát triển để chế tạo bộ kit phát hiện nhanh chất độc cyanide trong môi trường nước tại hiện trường.

Từ khóa: Cyanide; Chất độc toàn thân; Kit phát hiện chất độc; RGB.

1. MỞ ĐẦU

Cyanide là hợp chất điển hình thuộc nhóm chất độc toàn thân và đã được sử dụng trên quy mô lớn trong quá khứ, đặc biệt là trong chiến tranh thế giới thứ nhất [1]. Các hợp chất cyanide ảnh hưởng tới cơ thể bằng cách làm nhiễm độc hệ thống cytochrome oxidase, ngăn cản sự hô hấp tế bào và vận chuyển bình thường của oxy từ máu vào các mô tế bào [2]. Chất độc cyanide cũng được hấp thu nhanh qua đường tiêu hóa, qua niêm mạc, đường hô hấp, sau đó được phân bố nhanh vào cơ thể với thể tích phân bố tối đa là 1,5 L/kg và gắn với protein 60% [3]. Chúng không những được hấp thu rất nhanh vào cơ thể mà còn ức chế nhanh và mạnh lên chuỗi hô hấp tế bào (cytochrome oxydase) gây tử vong nhanh chóng [2].

Đã có một số bộ kit phát hiện chất độc cyanide trong nước như bộ kit M272 Water có thể phát hiện được chất độc trong nước với độ nhạy 2,0 ppm [4]; hòm K-54 của Nga có khả năng phát hiện chất độc với giới hạn phát hiện tối ưu đạt được cỡ 5 ppm [5]. Tuy nhiên, QCVN 01-1:2018 [6] quy định về chất lượng nước sạch sinh hoạt yêu cầu hàm lượng cyanide trong nước không vượt quá 0,05 ppm. Mặt khác, các bộ kit này đòi hỏi người sử dụng phải được đào tạo chuyên môn và phải tiếp xúc với các hóa chất nguy hại. Bài báo này trình bày phương pháp chế tạo kit phát hiện nhanh chất độc cyanide trong môi trường nước sử dụng thuốc thử *p*-nitrobenzaldehyde và *o*-dinitrobenzene. Giới hạn phát hiện đạt được là 50 ppb (quan sát bằng mắt thường), thời gian phát hiện < 15 phút.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất, thiết bị và dụng cụ

Hóa chất: *p*-nitrobenzaldehyde (99%, Acros), *o*-dinitrobenzene (98%, Acros); NaOH (99-100%, Merck); acid sulfuric (95-98%, Sigma Aldrich); nước siêu tinh khiết (Milli Q plus); potassium cyanide (PA, Merck); propylene glycol (99%, Merck); glycerol (99%, Fisher).

Thiết bị và dụng cụ: Cân phân tích điện tử Mettler hãng Toledo (Thụy Sĩ), độ chính xác $\pm 0,1$ mg; bể rửa siêu âm Elma S100H (Đức); ống polypropylene (đường kính trong ống 4 mm, chiều dài 10 cm); ống nghiệm thủy tinh, kích thước (12 \times 100) mm (Trung Quốc); micropipet Biologix (20-200 μ L, Mỹ) kèm theo đầu côn phù hợp; kim tiêm có đường kính (0,58 \pm 0,02) mm và một số dụng cụ thông thường khác.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp chuẩn bị mẫu chuẩn gốc và dung dịch KCN trung gian

Phương pháp pha dung dịch gốc tham khảo TCVN 7723-1:2015 - Chất lượng nước - Xác định cyanide tổng số và cyanide tự do sử dụng trong phương pháp phân tích dòng chảy [7].

- Dung dịch gốc KCN, $\rho_{\text{KCN}} = 1000$ mg/L: Hòa tan 125 mg KCN vào dung dịch sodium hydroxide ($C_M = 0,01$ mol/L) trong bình định mức 50 mL và thêm dung dịch natri hydroxide đến vạch mức. Dung dịch này bền trong 6 tháng tại nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

- Dung dịch KCN, $\rho_{\text{KCN}} = 100$ mg/L: Dùng pipet hút 10 mL dung dịch KCN ở trên cho vào bình định mức 100 mL và thêm dung dịch sodium hydroxide ($C_M = 0,01$ mol/L) đến vạch mức. Dung dịch này bền trong một tuần nếu được bảo quản tại nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

- Từ dung dịch KCN, $\rho_{\text{KCN}} = 100$ mg/L, pha loãng để thu được 7 ống nghiệm thủy tinh với 5,0 mL mẫu có nồng độ lần lượt là 1, 2, 5, 10, 20, 30, 50 mg/L để định tính dung dịch chứa cyanide. Để bán định lượng khi chuyển cyanide thành dạng khí, pha loãng mẫu chuẩn gốc để thu được các mẫu có nồng độ lần lượt là 0, 20, 50, 100, 200, 500 và 1000 ppb.

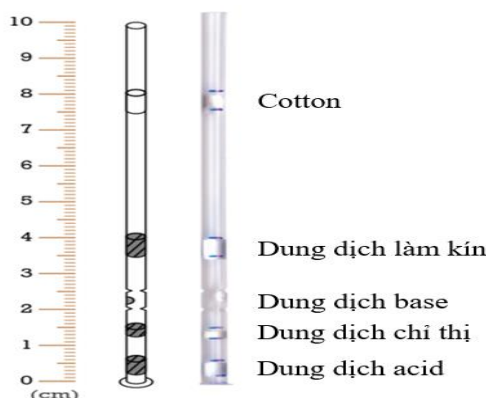
2.2.2. Phương pháp đo màu định tính cyanide trong dung dịch nước

Chuẩn bị 8 ống nghiệm thủy tinh dung tích 10 mL, thêm lần lượt 5 mL các dung dịch KCN có nồng độ từ 1, 2, 5, 10, 20, 30 và 50 mg/L vào các ống đánh số lần lượt từ 1 đến 7. Ống số 8 được thêm 5 mL nước siêu tinh khiết. Thêm vào mỗi lọ 100 μ L dung dịch hỗn hợp *p*-nitrobenzaldehyde và *o*-dinitrobenzene đã chuẩn bị ở trên và 100 μ L dung dịch NaOH ($C_M = 0,75$ mol/L). Lắc đều các ống và để yên trong 10 phút. Sau đó, theo dõi màu sắc trong từng lọ.

2.2.3. Phương pháp xây dựng dải màu chuẩn xác định cyanide trong mẫu nước

a. Thiết kế mô hình thí nghiệm:

Thiết bị được thiết kế để giải phóng, bẫy và định lượng hydro cyanide bên trong một hộp kín để loại bỏ sự tiếp xúc của người dùng với hóa chất. Thiết bị này được đặt trong một ống hút polypropylene nhỏ chứa bốn dung dịch: làm kín, base, chất chỉ thị và acid như hình 1.



Hình 1. Mô hình thiết kế chế tạo kit phát hiện chất độc cyanide.

Dung dịch làm kín (45 μL) được thêm vào đầu trên của ống hút và trượt vào vị trí nhờ trọng lực. Dung dịch này sẽ kéo dài trên mặt cắt ngang của ống hút. Các dung dịch base (5 μL) được chuyển vào khoảng không gian giữa hai nút thắt xuyên tâm tạo thành một giọt và sẽ trộn với chỉ thị trong quá trình hoạt động. Chất chỉ thị (20 μL) và acid (20 μL) được hút trực tiếp vào các vị trí thích hợp trên ống hút (hình 1). Đầu dưới cùng của ống hút được làm kín bằng cách dùng súng bắn keo. Một mảnh bông đã được đưa vào vị trí từ phía đầu trên của ống.

b. Phương pháp chuẩn bị các thành phần của bộ kit:

Dung dịch làm kín được chuẩn bị bằng cách trộn nước siêu tinh khiết với propylene glycol theo tỷ lệ thể tích 3:1. Dung dịch base được chuẩn bị bằng cách trộn dung dịch kali hydroxide 0,8 M với propylene glycol theo tỷ lệ thể tích 3:1. Dung dịch chỉ thị được chuẩn bị bằng cách hòa tan lượng thích hợp của *p*-nitrobenzaldehyde và *o*-dinitrobenzene ở 60 °C trong propylene glycol để tạo thành dung dịch *p*-nitrobenzaldehyde 0,05 M và *o*-dinitrobenzene 0,0125 M. Dung dịch acid được chuẩn bị bằng cách thêm từng giọt acid sulfuric 5 M trong nước đến một thể tích tương đương của glycerol lạnh.

c. Xây dựng dải màu chuẩn:

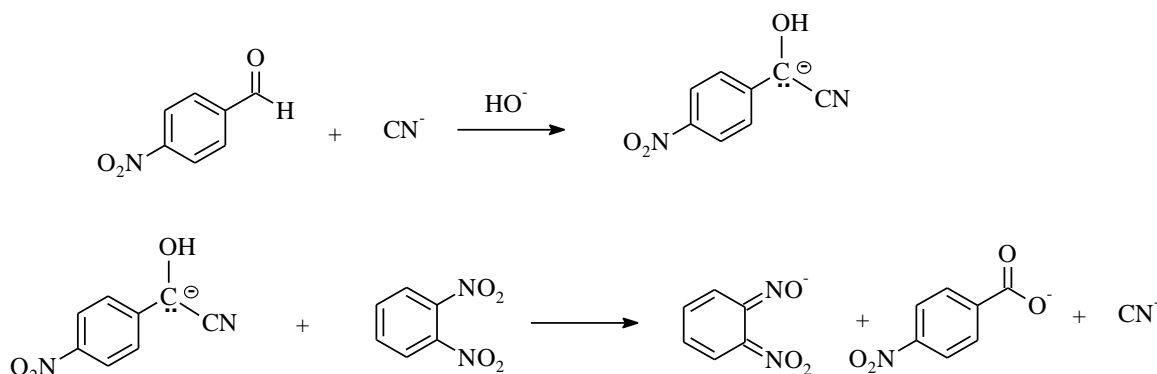
Quy trình tiến hành như sau: Đục một lỗ ở phía gần acid sử dụng một kim lấy từ xylanh loại 10 mL. Thiết bị sau đó được nhúng vào các mẫu có thể tích 10 mL và nồng độ lần lượt là 0, 20, 50, 100, 200, 500 và 1000 ppb, đầu acid được hướng xuống dưới. Mẫu đi vào thiết bị qua lỗ kim và trộn với dung dịch acid. Chất chỉ thị trộn với base và vẫn tách khỏi mẫu. Khi dung dịch làm kín được hấp thụ bởi bông, thiết bị được làm kín và thời gian bắt đầu được tính. Thiết bị được lấy ra khỏi mẫu và đảo ngược 3 lần để trộn các dung dịch với nhau. Sau 15 phút, quan sát màu sắc của lớp dung dịch làm kín và chụp lại hình ảnh của các ống thử. Dải màu chuẩn được xây dựng trên cơ sở màu sắc thu được.

2.2.4. Phương pháp phân tích bán định lượng cyanide trong mẫu thực

Mẫu thực là mẫu nước mặt được lấy từ vùng sông suối, được xử lý sơ bộ bằng phương pháp lọc qua bông/giấy lọc để loại các tạp chất vô cơ. Chuyển mẫu nước vào ống nghiệm thủy tinh, tiến hành thử nghiệm như quy trình đã nêu ở trên, quan sát màu sắc và so sánh với dải màu chuẩn.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Cơ chế phản ứng phát hiện cyanide sử dụng thuốc thử *p*-nitrobenzaldehyde và *o*-dinitrobenzene trong sự có mặt của base diễn ra như sau [8]:

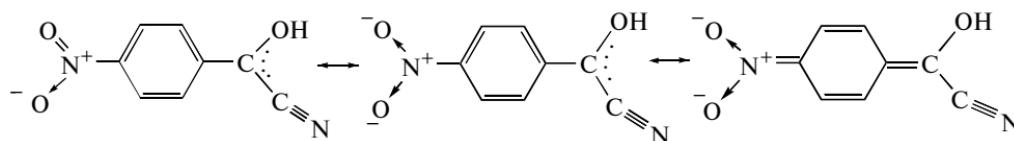


Hình 2. Cơ chế phản ứng phát hiện cyanide.

Cơ chế cụ thể được giải thích như sau:

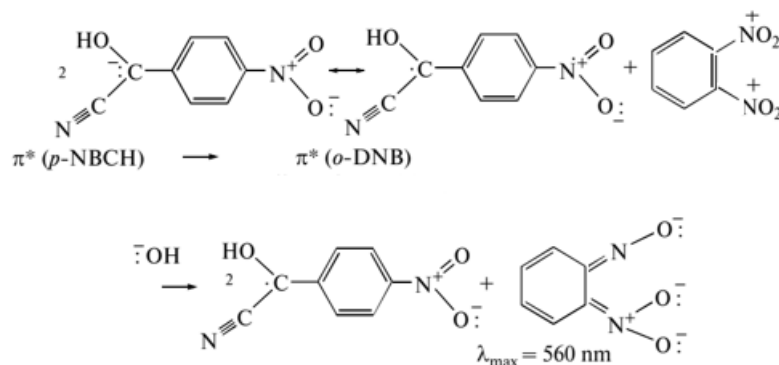
- Vị trí carbonyl của *p*-nitrobenzaldehyde bị tấn công bởi nucleophile CN^- với sự hoạt hóa của nhóm hút electron NO_2 . Độ pH của môi trường được duy trì là 8,5 để cyanide tồn tại dưới

dạng ion CN^- . Sản phẩm trung gian *p*-nitrobenzcyanohydrin được hình thành nhanh chóng theo động học vì được ổn định bởi các dạng cộng hưởng dưới đây:



Hình 3. Các dạng cộng hưởng của *p*-nitrobenzcyanohydrin.

- Dưới sự có mặt của *o*-dinitrobenzene, sự chuyển dịch electron không liên kết của *p*-nitrobenzcyanohydrin sang orbital π^* của *o*-dinitrobenzene. Điều này tạo nên sản phẩm có màu xanh tím đặc trưng. Quá trình phản ứng như sau:



Hình 4. Cơ chế tạo sản phẩm màu.

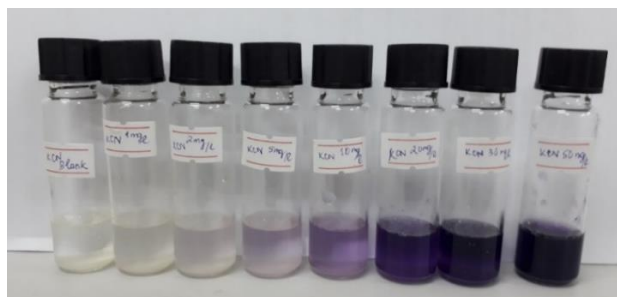
Dangkulwanich M. và cộng sự [9] đã báo cáo rằng, hơn 30 anion có khả năng gây nhiễu, bao gồm sulfide, hypochlorite và nitrile về phản ứng có thể xảy ra với thuốc thử chỉ thị này và tất cả đều âm tính.

3.1. Kết quả định tính nồng độ cyanide trong dung dịch

Định tính dung dịch chứa cyanide với giới hạn phát hiện là 2 ppm:

- Trong thí nghiệm này, thành phần thuốc thử được sử dụng là *p*-nitrobenzaldehyde và *o*-dinitrobenzene.

- Các nồng độ dung dịch cyanide được sử dụng là 1 ppm, 2 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 50 ppm. Sau khi nhỏ 100 μ L thuốc thử và dung dịch NaOH vào dung dịch, theo dõi trong 10 phút. Các dung dịch có sự thay đổi màu sắc dễ dàng quan sát bằng mắt thường. Cụ thể, màu của dung dịch chuyển dần từ vàng rất nhạt đến xanh tím khi nồng độ tăng dần. Dưới đây là hình ảnh kết quả thu được:



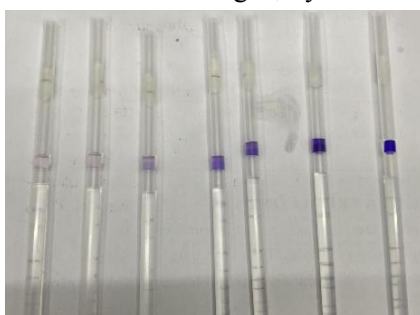
Hình 5. Kết quả định tính nồng độ cyanide trong mẫu.

Từ hình 5, giới hạn phát hiện xác định được là 2 ppm và màu sắc của các ống tăng dần cường độ khi nồng độ của cyanide tăng dần.

3.2. Kết quả xây dựng dải màu chuẩn để xác định cyanide trong nước

Mô hình thiết kế chế tạo kit phát hiện cyanide được lựa chọn trên cơ sở tham khảo tài liệu của Dangkulwanich M. và cộng sự [9]. Ống được lựa chọn là loại ống mềm bằng polypropylene có đường kính trong nhỏ, khoảng 4 mm và có chiều dài 10 cm. Trên thành ống được đánh dấu vị trí để đưa các thuốc thử vào. Cần lưu ý, thể tích của các thành phần cần được tính toán chính xác vì nếu thể tích nhỏ sẽ không thể phủ kín toàn bộ mặt cắt ngang của ống dẫn đến sai lệch kết quả. Lượng base sử dụng không nên dư quá nhiều vì sẽ dẫn đến tương tác với thuốc thử tạo ra sản phẩm phân hủy màu vàng nâu nhạt. Quá trình vận hành bộ kit cần lưu ý quan sát sự hòa trộn của các thành phần thuốc thử với nhau, trong đó, mẫu đi vào phải hòa trộn với acid và tách riêng khỏi hỗn hợp base và dung dịch chất chỉ thị. Chất làm kín cần tương tác hoàn toàn với lớp bông để làm kín hoàn toàn hệ thống, tránh sự thất thoát khí hydrogen cyanide ra khỏi ống.

Kết quả quan sát sự thay đổi màu sắc theo nồng độ cyanide được thể hiện trong hình 6.



Hình 6. Sự thay đổi màu sắc lớp chất làm kín theo nồng độ cyanide (blank, 20, 50, 100, 200, 500, 1000 ppb).

Từ hình 6 cho thấy, giới hạn phát hiện là 50 ppb (<15 phút), nếu kéo dài thời gian lên 30 phút, giới hạn phát hiện có thể đạt được ở mức 2-10 ppb.

3.3. Kết quả phân tích mẫu thực

Mẫu thực là mẫu nước mặt được lấy từ vùng sông suối, được xử lý sơ bộ bằng phương pháp lọc qua bông/giấy lọc để loại các tạp chất vô cơ. Sau khi tiến hành như quy trình đã nêu ở trên, kết quả cho thấy, đối với 05 mẫu nước thu thập được không có mẫu nào dương tính, chứng tỏ không có mẫu nào có nồng độ cyanide vượt quá mức 50 ppb.

Tiến hành thêm chuẩn vào các mẫu này với các nồng độ CN^- và bộ kit cho kết quả phù hợp với màu chuẩn đã xây dựng ở nồng độ 100 ppb. Kết quả thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1. Kết quả xác định cyanide trong mẫu thực và mẫu spike.

Ký hiệu mẫu	Nồng độ tìm thấy	Spike CN^- (50 ppb)	Spike CN^- (100 ppb)
M1	Không phát hiện	50	100
M2	Không phát hiện	50	100
M3	Không phát hiện	50	100
M4	Không phát hiện	50	100
M5	Không phát hiện	50	100

4. KẾT LUẬN

Cyanide trong nước đã được phát hiện bằng bộ kit sử dụng thuốc thử *p*-nitrobenzaldehyde và *o*-dinitrobenzene trong sự có mặt của base NaOH. Màu sắc của lớp dung dịch làm kín được quan sát dễ dàng bằng mắt thường. Giới hạn phát hiện của phản ứng là 50 ppb. Dải màu chuẩn được xây dựng tăng dần cường độ màu trong khoảng từ 50-1000 ppb. Bộ kit có khả năng phân tích mẫu thực tại hiện trường cho kết quả nhanh và chính xác.

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 trên xe lọc nước BΦC-2,5 ứng dụng trong huấn luyện, diễn tập, dã ngoại”, 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]. H. B. Leavesley et al., “*Interaction of cyanide and nitric oxide with cytochrome oxidase: implications for acute cyanide toxicity*”, Toxicol. Sci., 101 (1), pp. 101-111, (2008).
- [3]. D. M. G. Beasley et al., “*Cyanide poisoning: pathophysiology and treatment recommendations*”, Occup. Med., 48 (7), pp. 427-431, (1998).
- [4]. M272 Chemical agents water testing kit, NSN 6665-01-134-0885, Luxfer Magtech Inc.
- [5]. Bộ phương tiện phân tích K-54, Hướng dẫn sử dụng, NXB Cục Kỹ thuật, (1993).
- [6]. Bộ Y tế, QCVN 01-1:2018 về chất lượng nước sạch sử dụng cho mục đích sinh hoạt, 21 trang, (2018).
- [7]. TCVN 7723-1:2015 - Chất lượng nước - Xác định cyanide tổng số và cyanide tự do sử dụng trong phương pháp phân tích dòng chảy.
- [8]. Siripinyanond A. et al., “*A simple cyanide test kit for water and fruit juices*”, Anal. Methods, 2, pp. 1698-1701, (2010).
- [9]. Dangkulwanich M. et al., “*A membraneless gas-trapping device for cyanide detection and quantification*”, Analytical methods, 12, pp. 2009-2015, (2020).

ABSTRACT

Researching and developing a kit for the rapid detection of cyanide in water using *p*-nitrobenzaldehyde and *o*-dinitrobenzene reagents

Cyanide is a chemical warfare agent belonging to the group of blood agents. It is a compound capable of destroying cellular oxygen exchange, causing systemic toxicity and rapid death. Many methods have been studied for cyanide detection based on chromogenic reactions, but they often have poor sensitivity, long detection times, and are dangerous due to direct chemical exposure. This paper presents new method for the detection of cyanide in aqueous environment. Under established optimal conditions, cyanide was detected with limit of detection at 50 ppb. Semi-quantitative results of the field samples showed that the method was not effected by factors, capable of detecting cyanide within 15 minutes. In particular, after 30 min, the detection limit can be reached around 2-10 ppb. This method could be applied to detect cyanide in water in the field.

Keywords: Cyanide; Blood agents; Toxicity tests; RGB.