

ĐỀ TÀI NHÁNH KC.04.10.07

**XÁC ĐỊNH CÁC SẢN PHẨM TRUNG GIAN TRONG QUÁ TRÌNH
SINH PHÂN HỦY CÁC CHẤT THẢI QUỐC PHÒNG ĐẶC CHỦNG**

Chủ nhiệm đề tài: ThS. Lê Thị Thanh Vinh

Hà Nội 9 - 2004

5445 - M

818105 .

BÁO CÁO TỔNG KẾT ĐỀ TÀI NHÁNH: KC.04.10.07

**XÁC ĐỊNH CÁC SẢN PHẨM TRUNG GIAN TRONG QUÁ TRÌNH
SINH PHÂN HUỶ CÁC CHẤT THẢI QUỐC PHÒNG ĐẶC CHỦNG.**

Thuộc đề tài cấp nhà nước KC.04.10

**NGHIÊN CỨU CÔNG NGHỆ SINH HỌC XỬ LÝ CHẤT THẢI QUỐC
PHÒNG ĐẶC CHỦNG VÀ SỰ Ô NHIỄM VI SINH VẬT ĐỘC HẠI**

ThS. Lê Thị Thanh Vinh

Hà Nội 9 - 2004

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Hà nội, ngày 16 tháng 9 năm 2004

BÁO CÁO TỔNG KẾT KHOA HỌC ĐỀ TÀI NHÁNH:

Đề tài nhánh: " Xác định các sản phẩm trung gian trong quá trình sinh phân huỷ các chất thải quốc phòng đặc chủng".

Đề tài cấp nhà nước: KC.04.10 " Nghiên cứu công nghệ sinh học xử lý chất thải quốc phòng đặc chủng và sự ô nhiễm vi sinh vật độc hại "

Chủ trì đề tài nhánh: ThS. Lê Thị Thanh Vinh

Cán bộ thực hiện: CN Đặng Đức Khanh

Cơ quan chủ trì: Viện Pháp y Quân đội

THỦ TRƯỞNG
VIỆN PHÁP Y QUÂN ĐỘI

Chủ nhiệm đề tài nhánh



Đại tá Nguyễn Trọng Toàn

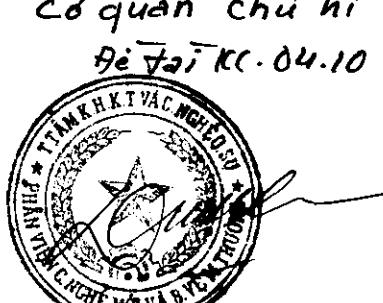


ThS. Lê Thị Thanh Vinh

Cán bộ thực hiện



CN. Đặng Đức Khanh



Đại tá. Phạm Sơn Dương

TÓM TẮT BÁO CÁO

Trong Quân đội thường xuyên có các hoạt động sửa chữa, sản xuất các loại vũ khí, vật liệu nổ và đây là nhiệm vụ thường xuyên và tất yếu của Quân đội. Tuy nhiên đây cũng là vấn đề hết sức phức tạp, nó thể hiện ở chỗ trong quá trình hoạt động sản xuất sẽ thải vào môi trường vô số các chất thải độc hại như trinitrotoluene (TNT), dinitrotoluene (DNT), nitroglycerin (NG), Axit Styphnic ... Để khắc phục hậu quả ô nhiễm này buộc chúng ta phải xử lý các chất thải ô nhiễm độc hại bằng các phương pháp khác nhau. Tuy nhiên phương pháp xử lý bằng cách ứng dụng vi sinh đã và đang đem lại những thành tựu to lớn và được ứng dụng rộng rãi.

Để giúp cho quá trình xử lý đạt hiệu quả cao, hoàn thiện và suy đoán cơ chế của quá trình thì cần thiết phải xác định các sản phẩm trung gian được tạo thành trong quá trình xử lý bằng phương pháp vi sinh.

Phương pháp sắc ký khí khối phổ đã được ứng dụng trong nghiên cứu này, cho phép phân tích xác định thành phần và cấu trúc của các hợp chất hữu cơ. Đây là một phương pháp phân tích hiện đại, được ứng dụng rộng rãi trong nhiều phòng thí nghiệm lớn trên thế giới. Tuy nhiên phương pháp này đòi hỏi chuẩn bị mẫu thật kỹ lưỡng ...

Kết quả phân tích đã đưa ra được quy trình phân tích và xác định được các sản phẩm trung gian trong quá trình sinh phân huỷ chất thải có chứa TNT, DNT: Các sản phẩm trung gian trong quá trình sinh phân huỷ TNT gồm - Benzenamine, 2-methyl-3,5dinitro và - Benzenamine, 4-methyl-3,5 dintro. Các sản phẩm trung gian trong quá trình sinh phân huỷ DNT gồm - 2-methyl-3-nitroanilin; - Benzenamine, 4-methyl-3-nitro và - Benzenamine, 2-methyl-5-nitro. Các mẫu nước thải có chứa nitro glyxerin (NG) và Axit Styphnic đang xử lý bằng phương pháp vi sinh không xác định thấy các sản phẩm trung gian.

MỤC LỤC

trang

I. Mở đầu

II. Tổng quan các chất thải quốc phòng đặc chủng

1. Trinitrotoluene (TNT)
2. Dinitrotoluene (DNT)
3. Axít styphnic.
4. Nitroglycerin (NG).

III. Đối tượng và các phương pháp nghiên cứu

1. Đối tượng nghiên cứu
2. Phương pháp sắc ký khí khối phổ
3. Phương pháp sắc ký cột
4. Phương pháp tách chiết và làm sạch

IV. Thực nghiệm

1. Dụng cụ và hoá chất

V. Kết quả nghiên cứu

VI. Kết luận

Tài liệu tham khảo

Phụ lục

XÁC ĐỊNH CÁC SẢN PHẨM TRUNG GIAN TRONG QUÁ TRÌNH SINH PHÂN HUỶ CÁC CHẤT THẢI QUỐC PHÒNG ĐẶC CHỦNG.

I. Mở đầu

Bảo vệ môi trường là một vấn đề được mọi người quan tâm, nó không chỉ là nhiệm vụ riêng của một nước, một khu vực mà là nhiệm vụ của toàn thế giới.

Trong sản xuất và chế biến thuốc nổ, thuốc phóng đã thải ra một lượng lớn hợp chất nitro độc hại như trinitrotoluene (TNT), dinitrotoluene (DNT), Nitroglycerin (NG), axit stypnic, ... vào môi trường nước. Nước thải có chứa các thành phần trên đã trở lên nguy hại, ảnh hưởng trực tiếp tới sức khoẻ của con người.

Ngày nay, phương pháp sinh học được đánh giá là phương pháp có nhiều triển vọng trong việc xử lý nước thải có chứa các thành phần TNT, DNT, axit stypnic Để giúp cho quá trình xử lý đạt hiệu quả cao, hoàn thiện và suy đoán cơ chế của quá trình thì cần thiết phải xác định các sản phẩm trung gian được tạo thành trong quá trình sinh phân huỷ.

Phương pháp sắc ký khí khối đã được ứng dụng trong nghiên cứu này, cho phép phân tích xác định thành phần và cấu trúc của các hợp chất hữu cơ. Đây là một phương pháp phân tích hiện đại, được ứng dụng rộng rãi trong nhiều phòng thí nghiệm lớn trên thế giới. Tuy nhiên phương pháp này đòi hỏi chuẩn bị mẫu thật kỹ lưỡng ...

II. Tổng quan các chất thải quốc phòng đặc chủng.

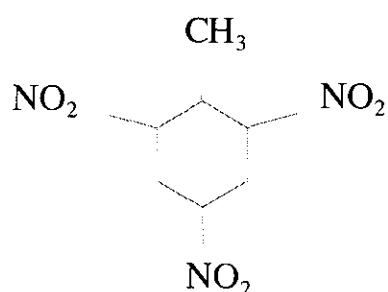
1. Trinitrotoluuen (TNT)

Trinitrotoluuen còn có tên gọi khác là Tonit hay Tronyl, viết tắt là TNT

Công thức phân tử là $C_6H_2(NO_2)_3CH_3$

Khối lượng phân tử là 227,13

Công thức cấu tạo của TNT



* Tính chất vật lý:

TNT tồn tại ở dạng tinh thể vàng nhạt, có vị đắng, nếu để ngoài không khí sẽ có màu vàng sẫm hoặc vàng nâu. nhiệt độ nóng chảy 80,7°C, nhiệt độ sôi 240°C. tỷ trọng 1,66.

TNT là loại hoá chất đặc biệt vừa có tính nổ, vừa có tính độc hại cao với môi trường và sức khoẻ con người. TNT là hợp chất rất bền trong môi trường, có thể bảo quản ở nhiệt độ bình thường trong 20 năm, TNT không bị phân huỷ ở 65°C trong 1 năm và 75°C trong 5 tháng, ngay cả khi ở 150°C trong vòng 40 giờ cũng chưa có hiện tượng phân huỷ, chỉ khi nâng lên nhiệt độ trên 150°C sự phân huỷ mới bắt đầu.

TNT tan ít trong nước, tan nhiều trong các dung môi hữu cơ, xâm nhập vào cơ thể con người thông qua các con đường như hô hấp, tiêu hoá, hấp thụ qua da. Các bệnh thường gặp khi nhiễm phải TNT là bệnh liên quan đến hệ thống tuần hoàn, bệnh về gan, tuy, thận, ngoài ra cũng gây đến mắt và hệ thần kinh

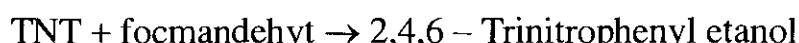
TNT là một trong những chất thải nguy hại, có nguy cơ gây ô nhiễm diện rộng vì có khối lượng thải thải lớn nhất trong ngành CNQP hiện nay, TNT

kết hợp với nhiều chất có mặt trong nước tạo ra nước có màu làm cho nước không đủ tiêu chuẩn khi thả ra môi trường.

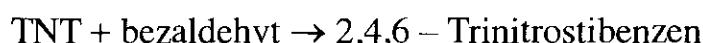
*Tính chất hoá học:

TNT là chất kém hoạt động, không tác dụng với kim loại và các chất nổ khác. Tuy nhiên cũng không hoàn toàn trơ với những tác nhân hoá học.

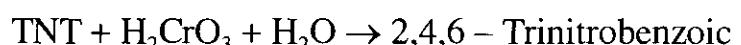
TNT tác dụng với kiềm, oxit kiềm và amoniac tạo thành các hợp chất dễ cháy nổ. TNT tác dụng với Natrisunfua tạo thành chất màu đỏ tan trong nước. Tác dụng với focmandehyt tạo thành 2,4,6 – trinitrophenol etanol



Tác dụng với benzaldehyt tạo thành 2,4,6 – Trinitrostibenzen



Dưới tác dụng của axit cromic và axit nitric, TNT bị biến hoá theo phản ứng.



Dưới tác dụng của ánh sáng mặt trời, tia UV với sự có mặt của oxy thì TNT bị phân huỷ và mất màu.

* Nguồn gây ô nhiễm:

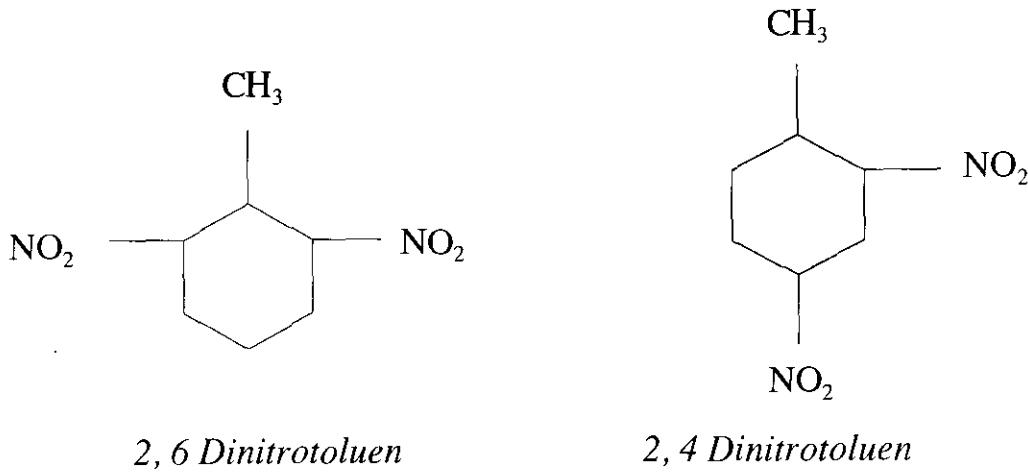
TNT có thể gây ô nhiễm rất lớn bởi các sản phẩm phân huỷ khi phát nổ lan truyền trong không khí và gây ô nhiễm môi trường xung quanh. Ngoài ra nguồn gây ô nhiễm TNT là các cơ sở sản xuất gia công và chế biến thuốc phóng và thuốc nổ.

2. Dinitrotoluen (DNT)

DNT gồm có 2,4 và 2,6 DNT; công thức phân tử là $\text{C}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2\text{CH}_3$.

Khối lượng phân tử là 167,1. Tính chất của DNT tương tự như TNT.

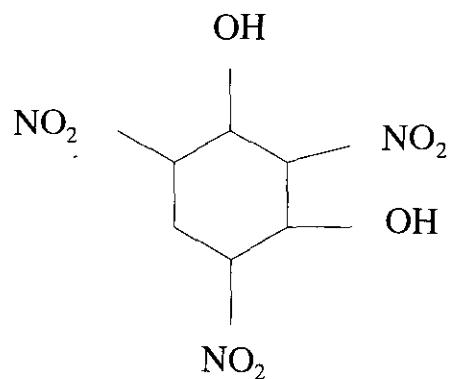
Công thức cấu tạo của DNT



3. Axít styphnic.

Axít styphnic có công thức phân tử là $\text{C}_6\text{H}(\text{NO}_2)_3(\text{OH})_2$.

Công thức cấu tạo của Axít styphnic:



Axít styphnic là hợp chất hữu cơ dùng để chế tạo thuốc gợi nổ, sử dụng trong công nghiệp sản xuất vũ khí, đạn ... Axít styphnic có tinh thể màu vàng, có nhiệt độ nóng chảy là $175,5^\circ\text{C}$.

4. Nitroglycerin (NG).

Nitroglycerin hay còn có tên: Glonoin, Nitroglycerol, Trinitroglycerin, Trinitrin. NG có công thức phân tử $C_3H_5N_3O_9$, Khối lượng phân tử của NG là 227,1. NG tan trong nước với tỷ lệ là 1/800, trong ethanol là 1/4.

Cũng như TNT, NG là chất thải vừa có tính nổ cao vừa là chất có ảnh hưởng nguy hại tới sức khoẻ con người và môi trường. Tuy nhiên NG là chất kém bén hơn so với TNT.

III. Đối tượng và các phương pháp nghiên cứu:

1. Đối tượng nghiên cứu:

Đối tượng nghiên cứu là các mẫu nước thải ở các nhà máy sản xuất vũ khí của quốc phòng, mẫu được xử lý bằng các chủng vi sinh vật trong các thời gian khác nhau. Mẫu do trung tâm công nghệ mới – bảo vệ môi trường.

2. Phương pháp sắc ký khí khối phổ

Theo quan niệm hiện đại thì khối phổ là detector của sắc ký khí. khói phổ làm việc theo nguyên tắc khi cấu tử cần tách rời khỏi cột sắc ký sẽ lần lượt đi vào buồng ion hóa. Trước khi đi vào buồng ion hóa, hỗn hợp khí mang và cấu tử phân tích được đi qua bộ tách loại khí mang và một phần cấu tử cần phân tích.

Khi các cấu tử cần phân tích đi vào buồng ion hóa thì quá trình phá vỡ phân tử thành các mảnh ion sẽ xảy ra. Vận tốc của các ion sẽ tăng lên khi đi qua bộ phận nhân điện có thế điện trường U:

$$V^2 = 2eu/m$$

Trong đó: V: tốc độ của ion phân tử.

m: khối lượng của ion phân tử

u: thế điện trường

e: điện tích của ion

Thường $V = 100\text{km/giây}$. Khi đi qua điện trường các ion có giá trị m/e khác nhau sẽ bị lệch đi theo các hướng khác nhau. m/e được gọi là số khối của các ion. Từ trường càng lớn thì sự phân tách các ion càng lớn, có nghĩa là độ phân giải khối phổ càng lớn. Phổ khối ngoài việc ghi lại các ion phân tử, ion đồng vị của phân tử, nó còn ghi lại được các mảnh phân huỷ của phân tử.

+ Chế độ thức nghiệm của máy sắc ký khí khói phổ:

- Máy khói phổ HP 5971

Độ phân giải của máy là 10000.

Năng lượng ion hoá là 70 eV

Sản phẩm trung gian được phân tích theo chế độ Scan, quét các mảnh phổ từ 50 đến 550.

Nhiệt độ detectơ là 280°C

- Máy sắc ký cột mao quản.

Tốc độ dòng khí mang heli 1ml/phút

Cột mao quản HP-5MS, 30m x 0,25mm.

Chương trình nhiệt độ: $70^\circ\text{C}, 1\text{ phút}, 10^\circ\text{C/phút}, 150^\circ\text{C}, 5^\circ\text{C/phút}, 280^\circ\text{C}, 10\text{ phút.}$

Nhiệt độ buồng bơm mẫu 250°C .

3. Phương pháp sắc ký cột:

Để xác định các chất TNT, DNT, NG và axit Styphnic trong các mẫu nước thải bằng phương pháp sắc ký đilưu cơ bản là làm sạch mẫu khi các chất có nguồn gốc tự nhiên được chiết ra cùng với TNT, DNT, NG, axit Styphnic là các chất béo, parafin và một số chất hữu cơ khác gây ảnh hưởng đến việc xác định, vì chúng luôn tồn tại ở nồng độ cao hơn so với chất phân tích. Những chất gây cản trở này thường được loại bỏ bằng phương pháp sắc ký cột. Cột ở đây là cột chứa Silicagel, mẫu được làm sạch không chỉ cho kết quả chính xác mà nó còn giữ cho cột tách sắc ký và detectơ không bị nhiễm bẩn.

4. Phương pháp tách chiết và làm sạch

25 ml mẫu nước có chứa TNT, DNT, NG, axits Styphnic đang xử lý được chiết bằng hỗn hợp dung môi n hexan : diclometan, dùng máy cất quay cô cạn dung dịch chiết đến còn 1ml, cho 1ml dung môi qua cột sắc ký thuỷ tinh có chứa 5 g silicagel, rửa giải bằng 20 ml dung môi n hexan, 50 ml hỗn hợp n hexan : axeton tỉ lệ 4 : 1. Làm khô các phân đoạn rửa giải đến thể tích 1ml rồi đem phân tích trên máy sắc ký khí khói phổ theo các điều kiện đã nêu.

IV. Thực nghiệm:

4.1. Dụng cụ và hoá chất:

4.1.1. Dụng cụ:

- Phiếu chiết tách 250ml.
- Bình nút nhám 100ml và 200ml.
- Ống đong 10ml, 25ml, 50ml.
- Cốc thuỷ tinh.
- Bình định mức.
- Máy cô cất quay chân không.
- Cân điện tử với độ chính xác 0,0001g.
- Cột sắc ký 30cm x 1,0cm.
- Syranh Hamilton 10 μ l.
- Máy sắc ký khí HP-6890
- Máy sắc ký khói phổ HP5971, 5973.

4.1.2. Hoá chất:

Các hoá chất được dùng phải có độ tinh khiết sắc ký gồm n-Hexan, Axeton, Diclometan, Methanol

- Nước cất 2 lần loại ion.
- Natrisunfat khan tinh khiết.
- Nitơ tinh khiết 99,999%.
- Silicagen 50 – 100mesh của hãng Merck.

V. Kết quả nghiên cứu.

Các mẫu nước chứa TNT, DNT, NG, axit Styphnic đang trong giai đoạn xử lý hoặc đã xử lý bằng phương pháp sinh học được phân tích trên máy sắc ký khí khói phổ HP 5971, 5973. Trong đề tài nghiên cứu chúng tôi đã tiến hành phân tích các mẫu nước thải chứa TNT; DNT; NG, axits Styphnic đang xử lý ở thời điểm khác nhau.

1. TNT (2,4,6 trinitrotoluene)

Phân tích các mẫu TNT - đã xử lý sinh học 2, 4, 6, 7 ngày.

Sản phẩm trung gian trong quá trình sinh phân hủy gồm:

- Benzenamine, 2-methyl-3,5dinitro.
- Benzenamine, 4-methyl-3,5 dintro.

Tỷ lệ phần trăm các sản phẩm trung gian được tạo ra trong hỗn hợp các sản phẩm(tính theo diện tích pic).

Sản phẩm	Thời gian xử lý (giờ)	72 h
Benzenamine, 2-methyl - 3,5 dinitro		32%
Benzenamine, 4-methyl - 3,5 dinitro		78%

2. DNT (2,4 và 2,6 Dinitrotoluene)

Phân tích các mẫu DNT đã xử lý sinh học 1,2,3,5 ngày.

Sản phẩm trung gian trong quá trình sinh phân huỷ gồm:

- 2-methyl-3-nitroanilin
- Benzenamine, 4-methyl-3-nitro.
- Benzenamine, 2-methyl-5-nitro.

Tỷ lệ phần trăm các sản phẩm trung gian được tạo ra trong trong hỗn hợp các sản phẩm (tính theo diện tích pic).

Sản phẩm	Thời gian xử lý (giờ)	0 h	24 h	48 h	72 h	120 h
2 methyl - 3 - nitroaniline	-	-	4,66%	4,15%	6,02%	
Benzenamine, 4methyl - 3 nitro	-	100%	64,4%	65,93%	63,15%	
Benzenamine, 2methyl - 5 nitro	-	-	30,94%	29,92%	30,83%	

3. Nitroglycerin(NG)

Phân tích mẫu chuẩn NG ban đầu đã nhận thấy ngoài thành phần là NG còn có urea, N, N-dimethyl-N, N'-diphenyl.

Mẫu nước thải chứa NG đang xử lý, sau khi tách chiết làm sạch bằng các dung môi khác nhau và phân tích trên máy sắc ký khí khói phổ HP 5971; HP 5973 bằng các cột HP 5; HP1; các chương trình khác nhau. Kết quả cho thấy hầu hết các mẫu nước không còn NG (mẫu 1, 4, 6, 7 còn ít NG). Không xác định thấy các sản phẩm trung gian có trong các mẫu nước nghiên cứu.

Vậy không xác định thấy các sản phẩm trung gian trong quá trình sinh phân huỷ các mẫu nước thải chứa NG.

4. Axit Styphnic

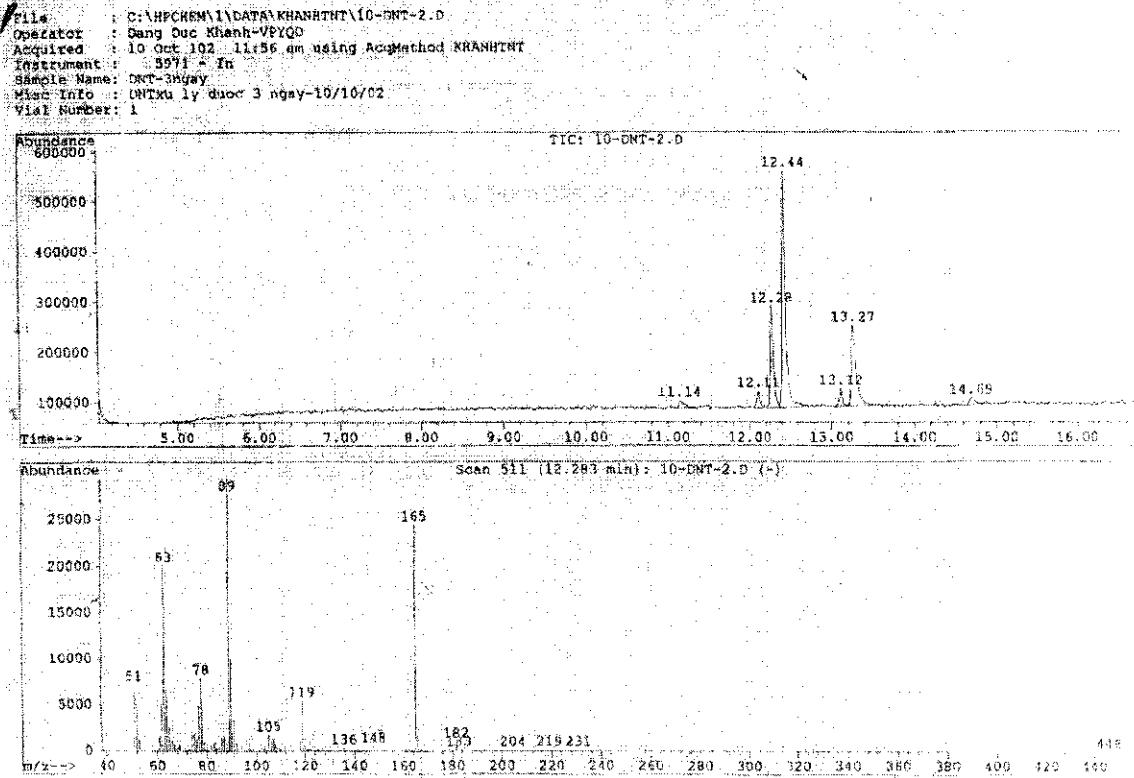
Phân tích các mẫu axit Styphnic đã xử lý sinh học 3, 5 ngày.

Không phát hiện thấy sản phẩm trung gian trong quá trình sinh phân huỷ. Tuy nhiên hàm lượng axit Styphnic trong mẫu là lượng vết.

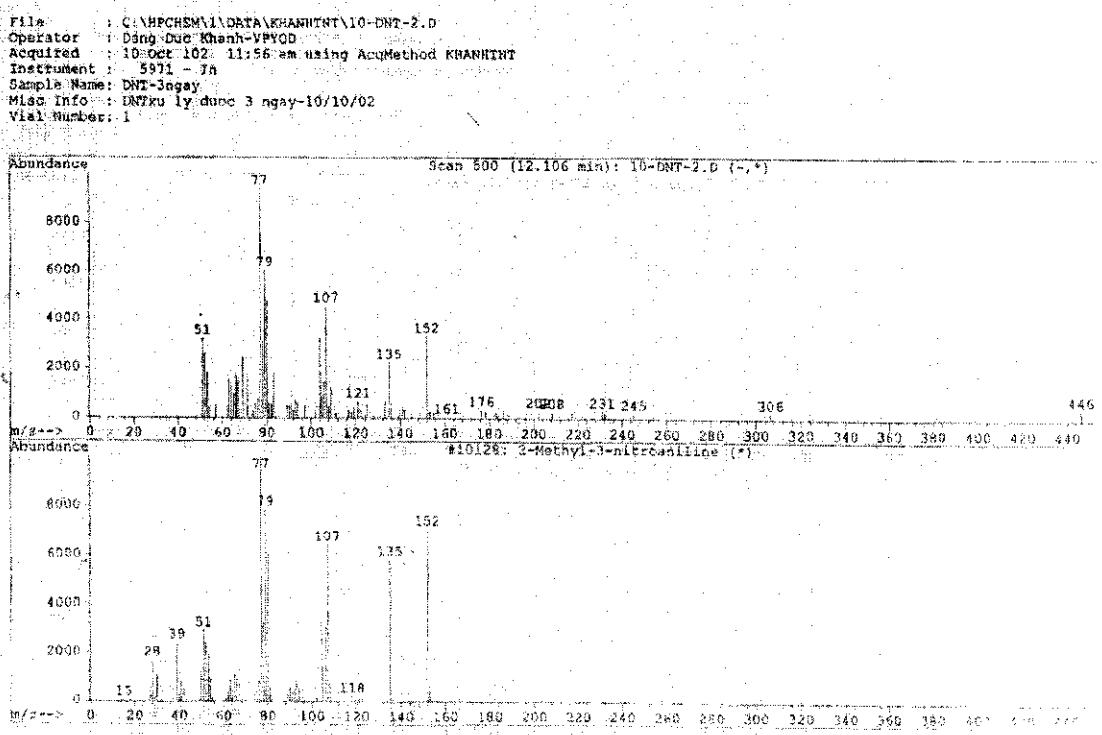
IV. Kết luận

Với tinh thần nghiên cứu không mệt mỏi, chính xác, tỉ mỉ chúng tôi đã xác định được các sản phẩm trung gian trong quá trình sinh phân huỷ các chất thải quốc phòng đặc chủng có chứa TNT, DNT.

Đã xây dựng được quy trình xác định các sản phẩm trung gian trong quá trình sinh phân huỷ các chất thải quốc phòng đặc chủng bằng thiết bị sắc ký khí khói phổ (GC/MS).

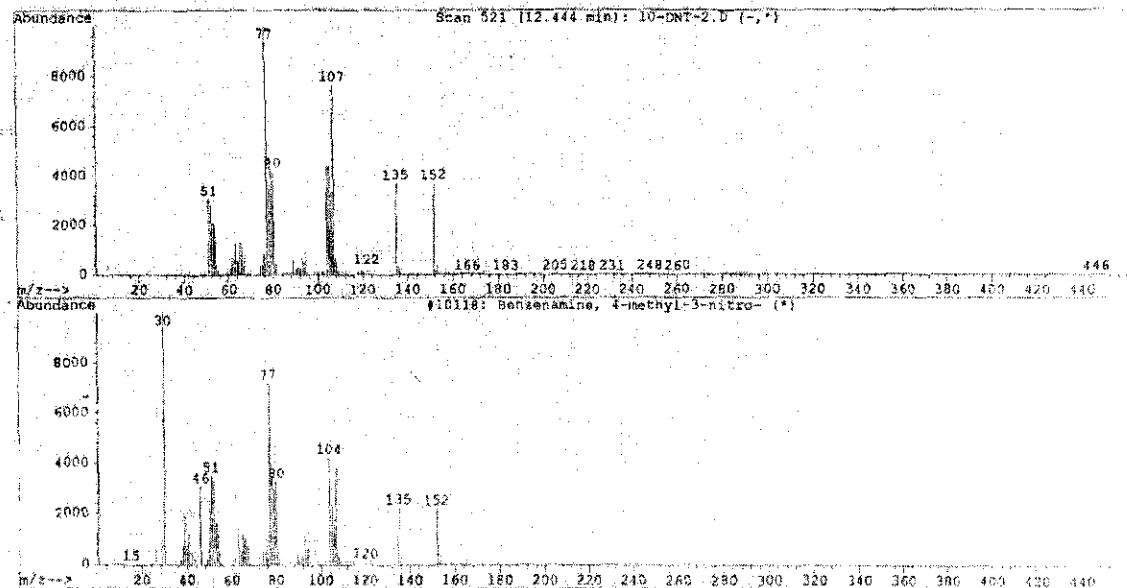


Sắc đồ phân tích DNT xử lý được 3 ngày.



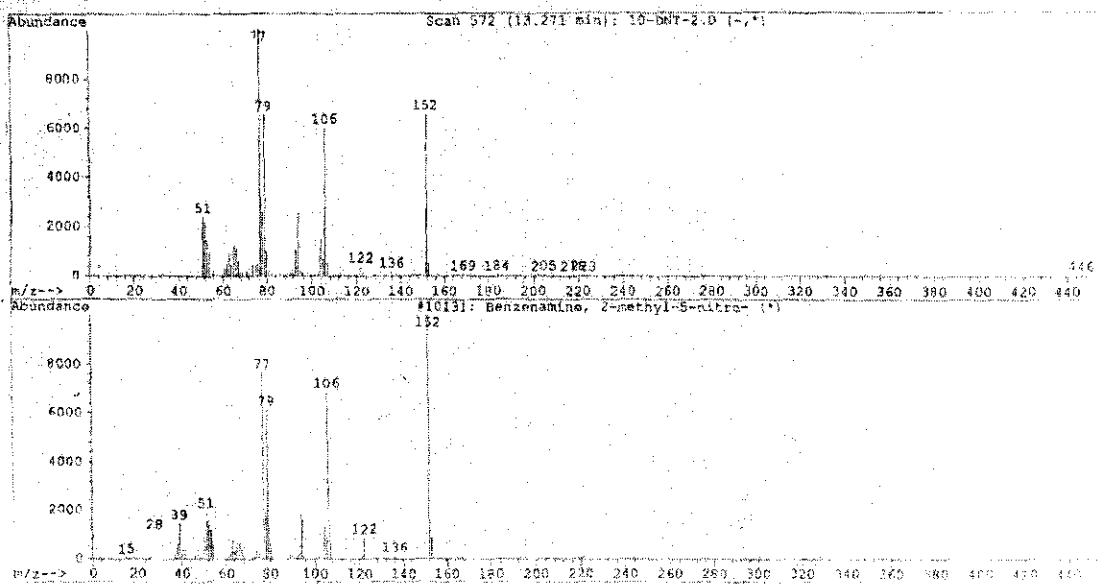
Phổ khối của sản phẩm trung gian 2-methyl-3-nitroaniline.

File : C:\PCHEM\1\DATA\KHANHTNT\10-DNT-2.D
 Operator : Dang Duc Khanh-VPYOD
 Acquired : 10 Oct 102 11:56 am using AcqMethod KHANHTNT
 Instrument : 5971 - In
 Sample Name: DNT-3ngay
 Misc Info.: DNTxu ly duoc 3 ngay-10/10/02
 Vial Number: 1

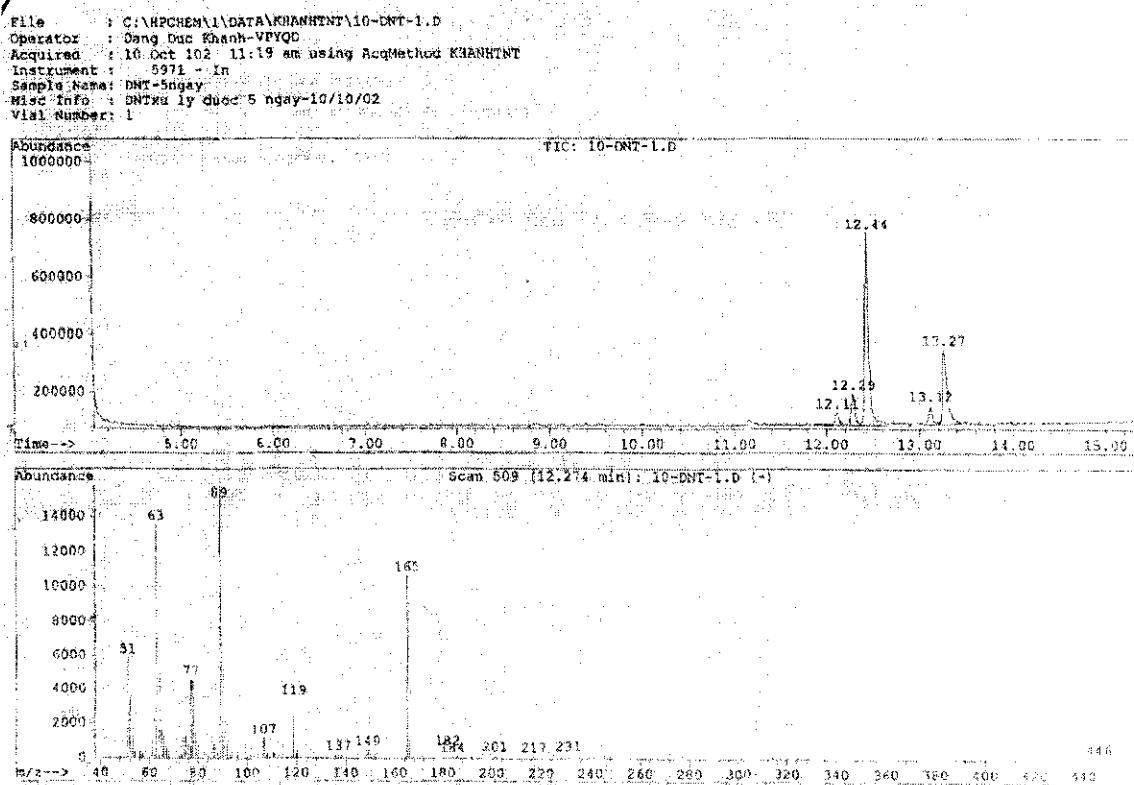


Phổ khói của sản phẩm trung gian Benzenamine, 4-methyl-3-nitro.

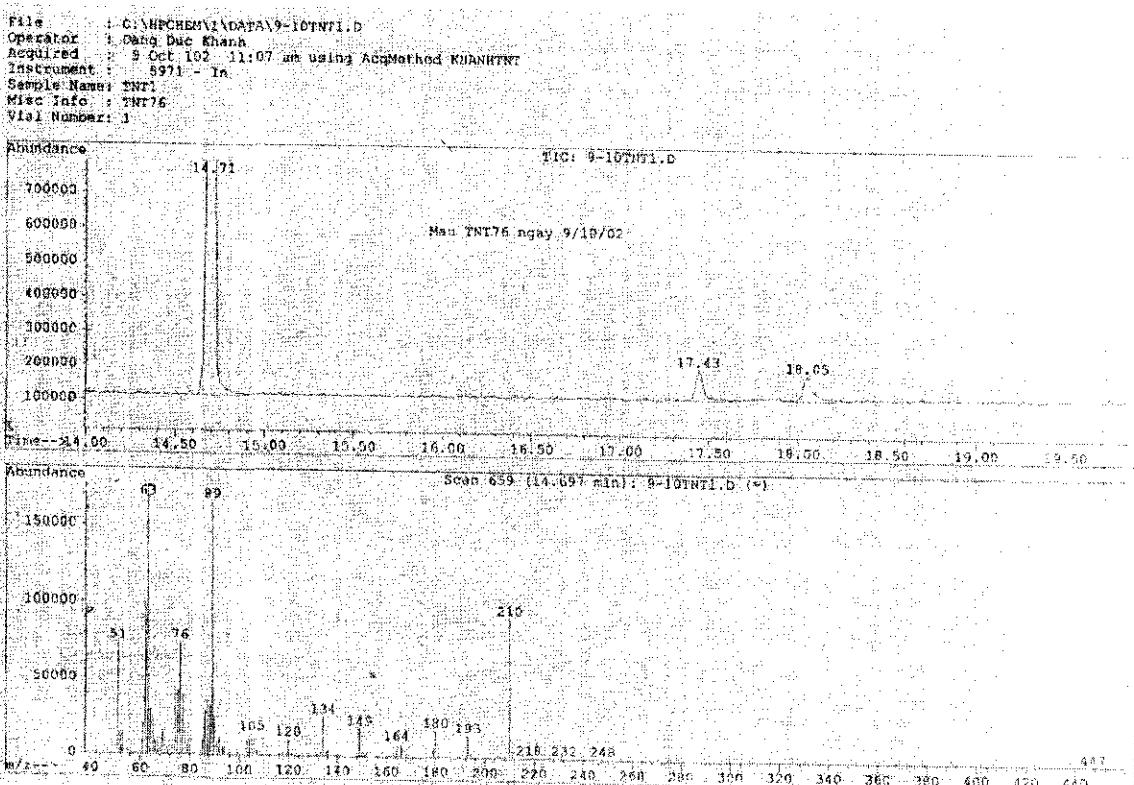
File : C:\PCHEM\1\DATA\KHANHTNT\10-DNT-2.D
 Operator : Dang Duc Khanh-VPYOD
 Acquired : 10 Oct 102 11:56 am using AcqMethod KHANHTNT
 Instrument : 5971 - In
 Sample Name: DNT-3ngay
 Misc Info.: DNTxu ly duoc 3 ngay-10/10/02
 Vial Number: 1



Phổ khói của sản phẩm trung gian benzenamine, 2-methyl-5-nitro:

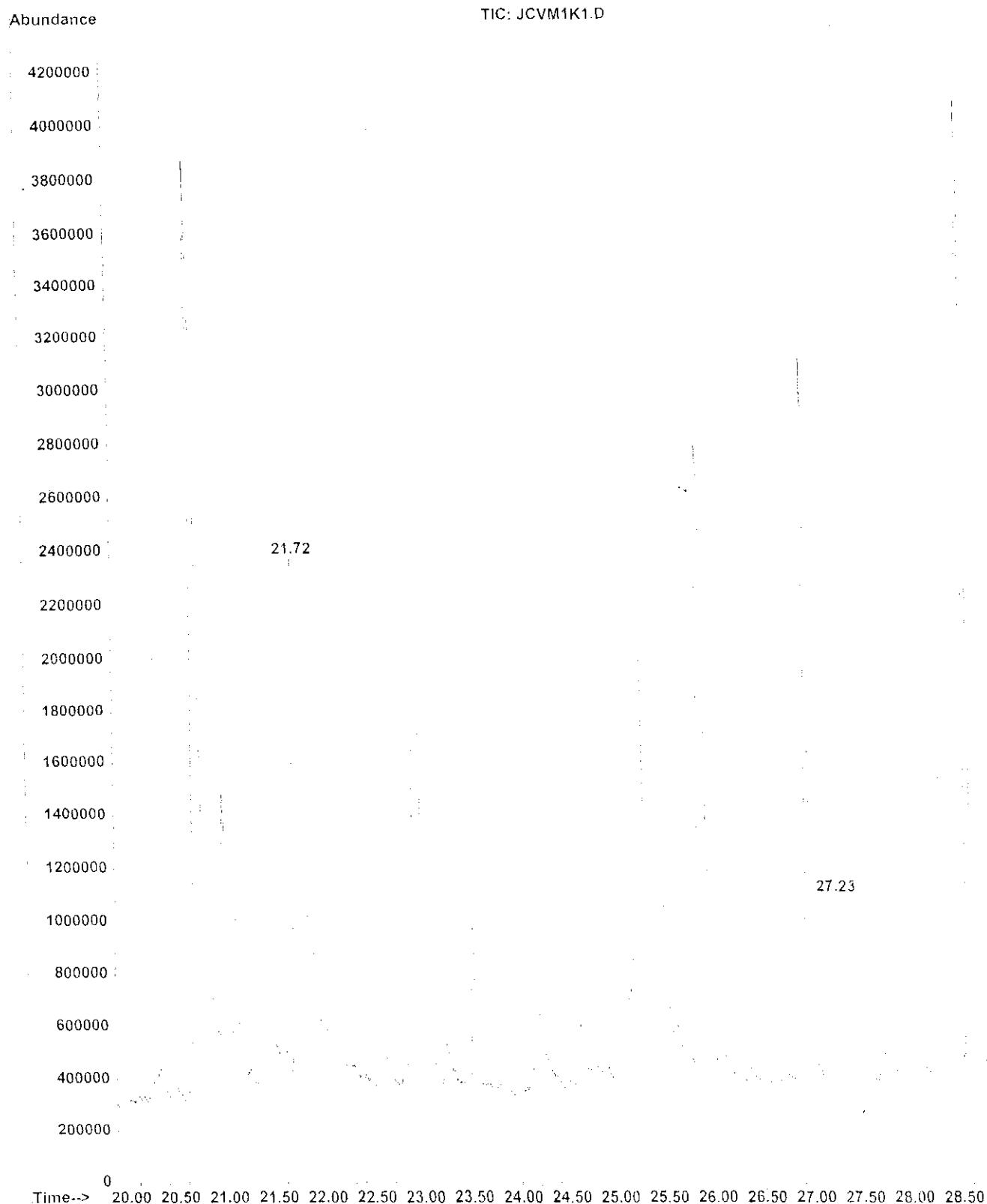


Sắc đồ phân tích DNT xử lý được 5 ngày.

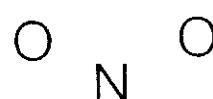
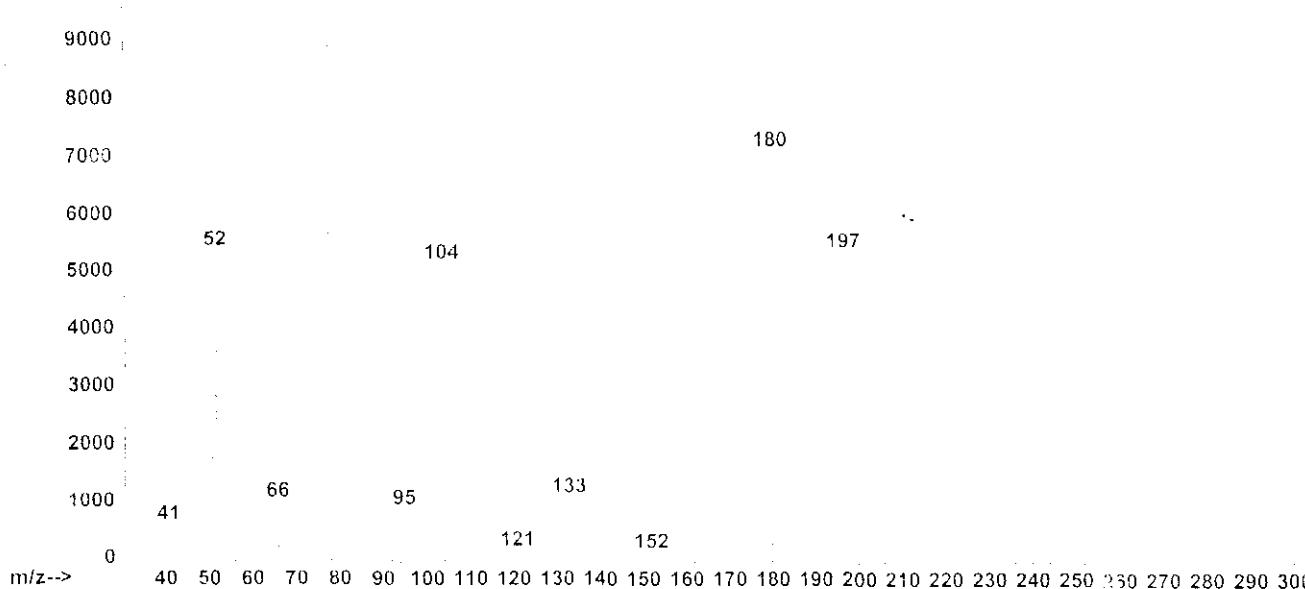
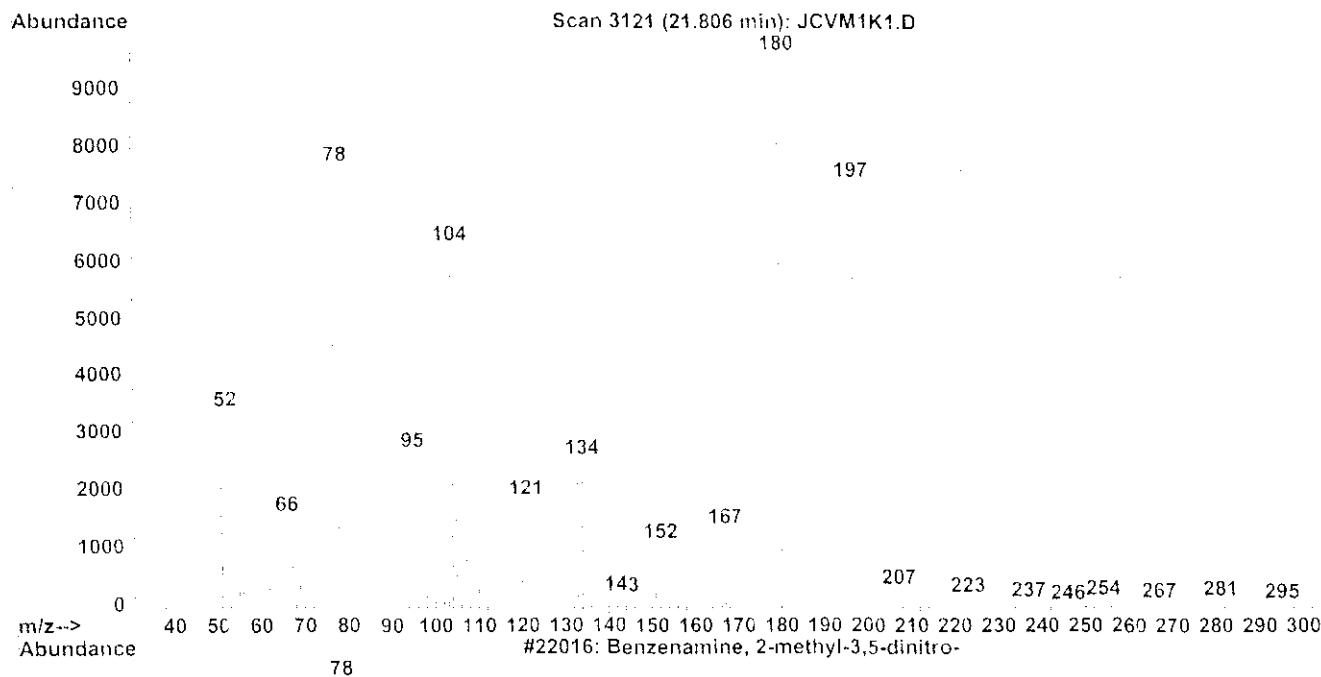


Sắc đồ phân tích TNT và sản phẩm trung gian

File : D:\HPCHEM\1\DATA\JCVM1K1.D
Operator :
Acquired : 15 Jun 04 1:29 pm using AcqMethod DAUMO
Instrument : GC/MS Ins
Sample Name: M1K
Misc Info : Chay lan 2
Vial Number: 1



Library Searched : C:\DATABASE\NBS75K.L
Quality : 18
ID : Benzenamine, 2-methyl-3,5-dinitro-



File : C:\MSDCHEM\1\DATA\TH1-6-11.D

Operator : vcs

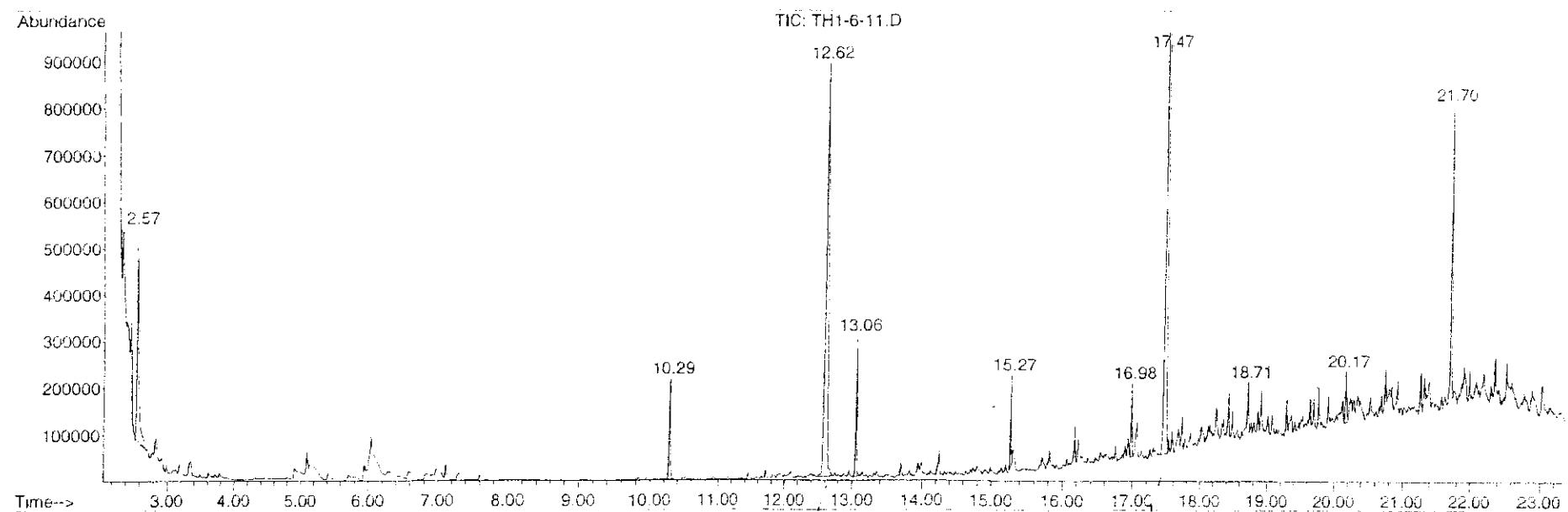
Acquired : 6 Nov 2003 11:36 using AcqMethod SAU1

Instrument : Instrumen

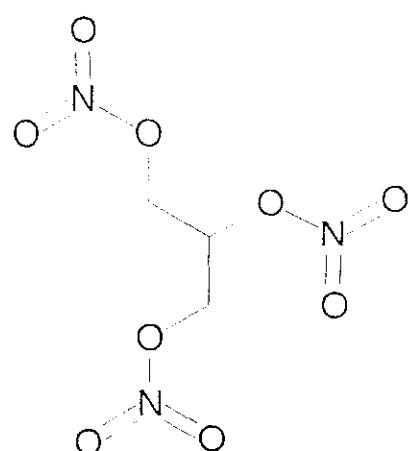
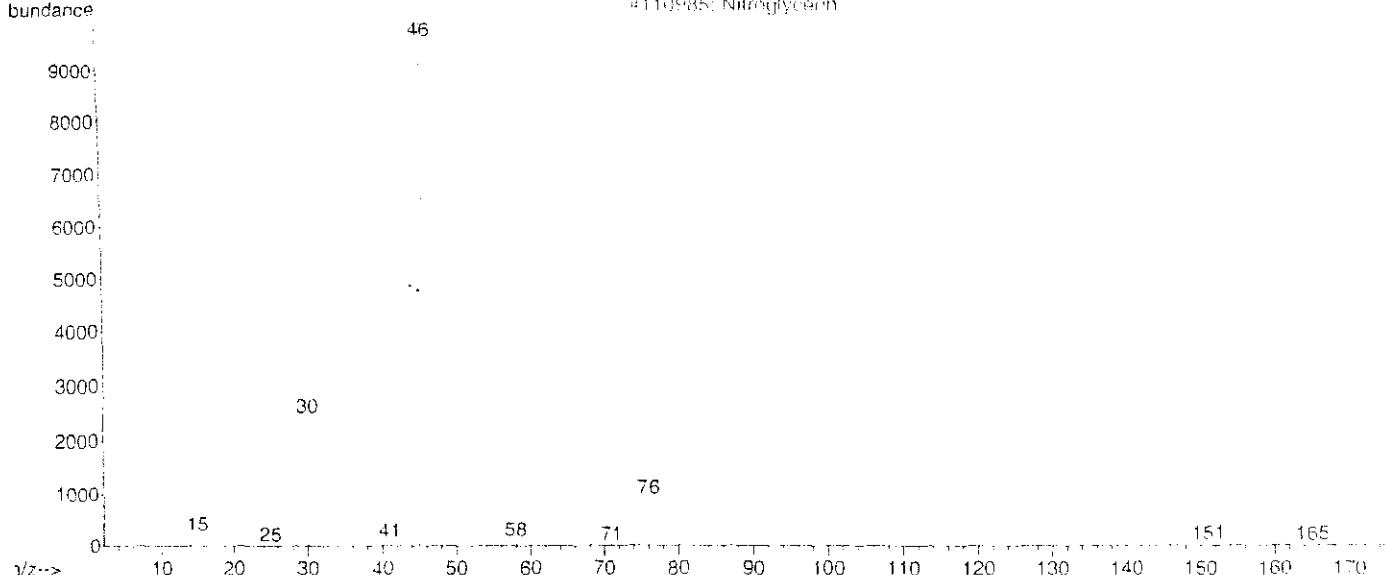
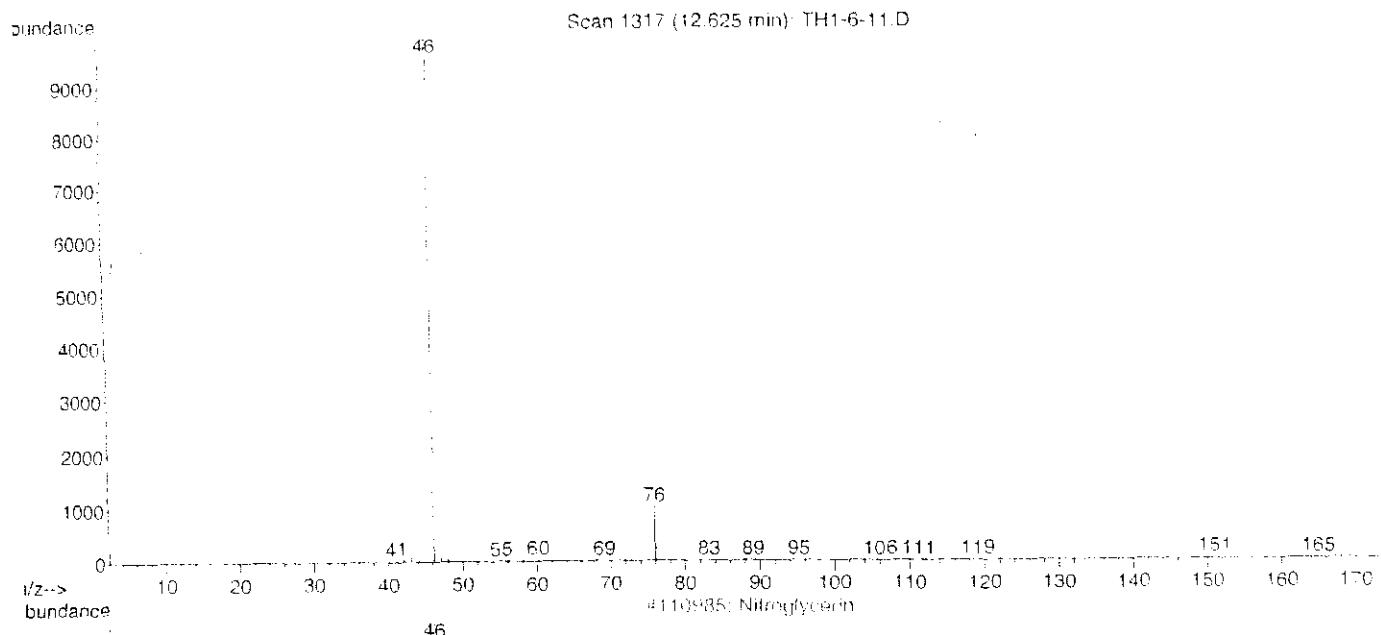
Sample Name: M1

Misc Info :

Vial Number: 1



library Searched : C:\Database\MIST98.D
Quality : 4
ID : Nitroglycerin



TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đào Hữu Vinh, Nguyễn Xuân Dũng, Phạm hùng Việt, Trần Thị Mỹ Linh. Các phương pháp sắc ký khí. NXB Khoa học và Kỹ thuật Hà nội, 1985.
2. Phạm Đồng Điện. Thuốc nổ công nghiệp, NXB Khoa học và Kỹ thuật Hà nội, 1998.
3. Nguyễn Liễu. Nghiên cứu tác hại của chất nổ TNT đến sức khoẻ của những người tiếp xúc trực tiếp với chúng trong thời gian dài. Luận án tiến sỹ y dược, HVQY, Hà nội, 1995.
4. I.urbanski. Chemistry and Technology of explosives, vol.1, Mac Millan, New york, 1961.