

Mikrobølgeteknikk til ekstraksjon av kjemiske stridsmidler fra jord

Fatima Hussain

Forsvarets forskningsinstitutt (FFI)

29. februar 2008

FFI-rapport 2008/00643

1121

ISBN 978-82-464-1373-0

Emneord

Analytisk kjemi

Kjemiske stridsmidler

Jord

Mikrobølgeovn

Ultralydbad

Godkjent av

Bjørn Arne Johnsen

Prosjektleder

Bjørn Arne Johnsen

Forskningssjef

Jan Ivar Botnan

Avdelingsjef

Sammendrag

Identifikasjonslaboratoriet ved Forsvarets forskningsinstitutt (FFI) studerer nye ekstraksjonsteknikker for å bestemme kjemiske stridsmidler (CWA) i ulike matriser. Formålet er å utvikle mer effektive, kostnadsbesparende og raske analytiske metoder for identifikasjon av CWA.

Per idag opparbeides prøvene i henhold til “Recommended Operating Procedures for Sampling and Analysis in the Verification of Chemical Disarmament”. Opparbeidelsesprosedyren for jord er basert på bruk av ultralydbad. Det har vist seg at denne teknikken gir varierende gjenfinning av CWA avhengig av jordtypen som opparbeides.

Det har derfor vært ønskelig å anvende mikrobølgeteknikk til å opparbeide jordprøver som er forurenset med CWA. Forsøk har blitt utført hvor følgende parametere har blitt studert: jordtype, fuktighet i jorda, løsemiddel og ekstraksjonstemperatur.

Det har vist seg at gjenfinningen av sennepsgass, soman og VX fra jord ikke forbedres i betydelig grad ved ekstraksjon i mikrobølgeovn framfor ultralydbad.

English summary

The Norwegian Defence Research Establishment (FFI) is presently studying newly developed extraction techniques for the determination of chemical warfare agents (CWA) in different matrices. The purpose is to develop more efficient, cost-efficient and fast analytical methods for the identification of CWA.

FFI prepares the samples in accordance with “Recommended Operating Procedures for Sampling and Analysis in the Verification of Chemical Disarmament”. The procedure for the preparation of soil is based on sonication. This extraction technique gives varying recovery of CWA for the different types of soil.

Therefore, it has been of interest to use the microwave extraction technique for the preparation of soil samples spiked with CWA. Experiments have been performed, where the following parameters have been studied: type of soil, amount of water in the soil, solvent and extraction temperature.

The experiments showed that the recoveries of sulphur mustard, soman and VX from soil were not significantly improved by microwave extraction compared to extraction by sonication.

Innhold

1	Innledning	7
2	Teori	8
3	Kjemikalier, gasser, løsninger og jordprøver	9
3.1	Kjemikalier	9
3.2	Gasser	9
3.3	Løsninger	10
3.4	Jordprøver	10
4	Instrumenter og utstyr	11
5	Eksperimentelt	12
5.1	Ultralydbad	12
5.2	Mikrobølgeovn	13
6	Resultater	14
6.1	Diklormetan og ultralydbad	14
6.2	Diklormetan og mikrobølgeovn	16
6.3	Aceton	17
6.4	Aceton/diklormetan	19
7	Konklusjon	21
	Referanser	22
	Appendiks	23
A.1	Abstrakt	24
A.2	Poster	25

1 Innledning

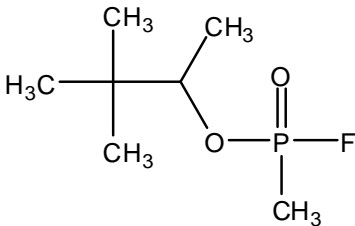
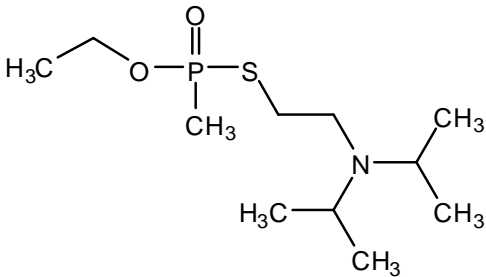
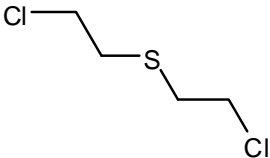
Forsvarets forskningsinstitutt (FFI), er det eneste NATO-godkjente laboratoriet i Norge som har i oppgave å opparbeide og analysere prøver kontaminert med kjemiske stridsmidler og relaterte forbindelser. I den sammenheng er jord en av de mest vanlige prøvematriksene som mottas. Metoden for opparbeidelse av jordprøver er basert på ”Recommended Operating Procedures for Sampling and Analysis in the Verification of Chemical Disarmament”, 1994 Edition (ROP), kapittel SP 4.5 [1]. I dette kompendiet er opparbeidelsesmetoder utviklet av flere internasjonale laboratorier samlet inn. FFI har valgt å bruke en prosedyre hvor ultralydbad benyttes til ekstraksjon av kjemiske stridsmidler og relaterte forbindelser fra jord.

Ved FFI har tidligere forsøk med ultralydbad, vist at gjenfinningen av kjemiske stridsmidler og deres simulanter fra forskjellige karakteriserte jordtyper, varierer med jordtypen [2;3]. For siltig finsand var gjenfinningen av sarin, soman, tabun og sennepsgass på 50-75%, mens for mellomleire var gjenfinningen derimot på 10-30%. Det er kjent at ultralydekstraksjon kan gi flere ”aktive” seter på jorda som kan medføre at analytten binder seg i enda sterkere grad til jordpartiklene [1]. En annen ulempe ved denne teknikken er en viss fare for dekomponering av analyttene under selve ekstraksjonen. Det har derfor vært ønskelig å se på alternative ekstraksjonsmetoder som mikrobølgeovn.

FFI bruker idag mikrobølgeteknikk til å ekstrahere polyklorete bifenyler (PCB) og hydrokarboner fra sediment, slam og biota [4;5]. I litteraturen har det blitt vist at organofosforpesticider lar seg ekstrahere fra jord ved bruk av mikrobølgeteknikk [6]. Pesticider som for eksempel malathion, diazinon og dimethoate har blitt ekstrahert fra ulike jordtyper med en gjenfinning på > 90%. Disse pesticidene har liknende struktur og virkemåte som kjemiske stridsmidler, og det er derfor av interesse å se om mikrobølgeteknikk kan anvendes til å ekstrahere kjemiske stridsmidler fra jord. Ved litteraturstudier har det ikke blitt funnet publikasjoner på bruken av mikrobølgeteknikk til å ekstrahere kjemiske stridsmidler fra faste prøvematriser.

I denne rapporten vil gjenfinningen av utvalgte kjemiske stridsmidler fra jord ved bruk av mikrobølgeovn og ultralydbad sammenlignes. Jorda vil bli tilsatt soman, sennepsgass og VX (Tabell 1), og påvirkningen av enkelte ekstraksjonsparametre på gjenfinningen av de valgte CWA vil bli studert. Ekstraksjonsparametere som løsemiddelsammensetning, jordtype, fuktighet i jorda og ekstraksjonstemperatur vil bli diskutert.

Tabell 1 Navn, struktur, molekylmasse og kokepunkter (k.p.) til de valgte kjemiske stridsmidlene [7].

Trivialt navn	Forkortelse	Struktur	Molekylmasse (g/mol)	k.p. (°C)
Soman	GD		182.1	167 ^a
VX	VX		267.3	>300 ^a
Sennepsgass	HD		159.1	217 ^a

^aDekomponering av forbindelse.

2 Teori

I en mikrobølgeovn vil de elektromagnetiske bølgene gi et elektrisk og et magnetisk felt. Feltet medfører bevegelse og rotasjon av polare molekyler som gir kollisjoner mellom molekylene. På grunn av kollisjonene vil energi frigjøres og temperaturen vil øke. Temperaturstigningen i den lukkede beholderen, gjør at ekstraksjonstemperaturen er betydelig høyere enn kokepunktet for løsemidlet ved atmosfæretrykket. 14 prøver kan ekstraheres samtidig, men prøvematriks og løsemiddel må være lik i alle beholderne (Figur 1).

I et ultralydbad vil akustiske vibrasjoner på 20 – 40 Hz medføre dannelse av små bobler av løsemiddeldampen. Når disse boblene kollapser, fås en "sjokkbølge" som rister løs analyttmolekyler fra overflaten på prøvematriksen. Ekstraksjonen skjer ved en lavere temperatur enn kokepunktet til løsemidlet. 18 prøver kan ekstraheres samtidig t uavhengig av løsemiddel og matriks (Figur 1).

Ultralydbad og mikrobølgeteknikk er de teknikkene som hovedsaklig brukes til ekstraksjon av analytter fra faste prøvematiser.



Figur 1 Mikrobølgeovn (venstre) og ultralydbad (høyre). (Foto: FFI)

3 Kjemikalier, gasser, løsninger og jordprøver

3.1 Kjemikalier

Diklormetan, CH_2Cl_2 , Ultra resi analyzed, (>99,8%), J.T. Baker

Aceton, $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$, Ultra resi analyzed, (>99,4%), J.T. Baker

O-pinacolyl metylfosfonofluoridat (soman, GD), $\text{C}_7\text{H}_{16}\text{FO}_2\text{P}$, (autentisk ref. CWC 1-177), FFI

Bis(2-kloretyl)sulfid (sennepsgass, HD), $\text{C}_4\text{H}_8\text{Cl}_2\text{S}$, (autentisk ref. CWC 1-89/2), FFI

O-etyl S-2-diisopropyl aminoetyl metylfosfonothioltat (VX), $\text{C}_{11}\text{H}_{26}\text{NO}_2\text{PS}$,
(autentisk ref. CWC 1-155), FFI

Natriumsulfat, Na_2SO_4 , pro analysi, Merck, tørket ved temperatur >105 °C i 5 timer og oppbevart i eksikator med tørkemiddel tilsatt fargeindikator

Natriumhypokloritt, NaOCl , 15%, VWR International

Vann, H_2O , ultrarent ved bruk av USF ELGA Maxima ultra pure water vannrensere

3.2 Gasser

Helium, 6.0, AGA

Nitrogen, 5.0, AGA

3.3 Løsninger

Primærstandard:

5 µl GD, HD og VX ble satt til et reagensglass med 5 ml innveid diklormetan, aceton eller aceton/diklormetan (1:1). Det ga en konsentrasjon på ca 1000 µg/ml. Primærstandarden ble oppbevart i fryser ved < -18 °C.

Kalibreringsstandarder:

2,5 µl, 3,5 µl, 5 µl, 7,5 µl, 9 µl og 10 µl av primærstandarden ble satt til autosamplerglass, og fortynnet til 1 ml med diklormetan, aceton eller aceton/diklormetan (1:1). Kalibreringsløsningene ble analysert samme dagen som prøvene. Kalibreringsstandardene ble oppbevart i fryser ved < -18 °C.

Kontrolløsning:

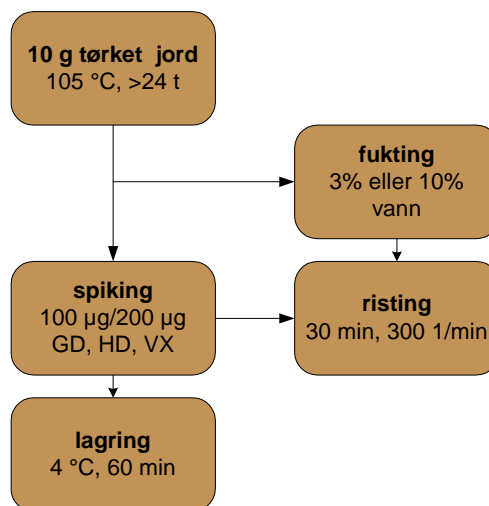
For ca hver tiende prøve som ble analysert, ble en av kalibreringsløsningene analysert som kontrolløsning.

3.4 Jordprøver

Ved sammenligning av gjenfinningen av stridsmidlene ved ekstraksjon i enten mikrobølgeovn eller ultralydbad, ble både tørr og fuktig jord preparert. Følgende to jordtyper ble benyttet under forsøkene:

- Mellomleire fra "Dompa" med pH 5,6 og 0,4 g/100 g total organisk karbon.
- Mellomsand kjøpt fra MAXBO. Sanden kalles for ASAK miljøstein og brukes som fugesand for belegningsstein og heller. Mellomsanden har pH 6,7 og 0,2 g/100 g total organisk karbon.

Begge jordtypene ble tørket i minimum 24 timer ved $(105 \pm 3)^\circ\text{C}$ (Figur 2). Deretter ble jorda knust i en morter og siktet gjennom 2 mm sikt. 10 g jord ble veid inn i et sentrifugerør eller en beholder av teflon tilhørende mikrobølgeovnen. Mellomsand og mellomleire ble tilsatt henholdsvis 100 µl og 200 µl primærstandard. Det ga en konsentrasjon på ca 0,01 mg/g og 0,02 mg/g jord. Ved preparering av fuktig jord ble enten 3 eller 10 vektprosent vann tilsatt, og prøven ble ristet i en halv time ved 300 1/min, før primærstandarden ble satt til. Deretter stod prøven med lokk i kjøleskapet i en time ved 4 °C. Den samme dagen ble prøven enten ekstrahert i ultralydbad eller i mikrobølgeovn.



Figur 2 Flytskjema for preparering av tørr/fuktig mellomleire og mellomsand.

4 Instrumenter og utstyr

Fisons HRGC 8060 gaskromatograf med AS 800 autosampler

Fisons kvadrupol massespektrometer i elektronionisasjonsmodus (MD 800)

Software, Xcalibur versjon 1.2 med NIST bibliotek (2002)

Kapillærkolonne, DB-5MS, 30 m x 0,25 mm i.d., 0,25 µm filmtykkelse, J&W

Ultralydbad, Sonorex, Super, Bandelin

Mikrobølgeovn med ekstraksjonsbeholdere i teflon, MARSX, CEM

Varmeskap, Termaks

Vekt, AE 260, Mettler

Ristebord, IKA Labortechnik

Whirlmikser, IKA Labortechnik

Inndampingssystem med nitrogen, Techne

Sentrifuge, IEC Centra CL3R, rotor 243

Sentrifugerør med skrukork, FEP, 30 ml, Nalgene

5 µl Hamilton sprøyte, Alltech

20 ml Omnifix sprøyte uten nål, Braun

Filter, 0,45 µm type minisart RC 25, Sartorius

Digitale pipetter nr P-1, P-2, P-3, P-4, P-5 og P-19, Labsystems

Reagensglass med skrukork, 15 ml, Pyrex

Autosamplerglass, 2 ml, skrukork med teflonbelagt septa type 8-ST14, Chromacol

Morter

Sikt, 2 mm

Det ble benyttet glassutstyr i klasse A.

5 Eksperimentelt

5.1 Ultralydbad

Opparbeidelse av jordprøvene ved bruk av ultralydbad er basert på "Recommended Operating Procedures for Sampling and Analysis in the Verification of Chemical Disarmament", 1994 Edition (ROP), kapittel SP 4.5. Opparbeidelsesprosedyren er beskrevet punktvis nedenfor, men er også skissert i et flytskjema (Figur 3).

- 1) 10g tørket og siktet jord ble veid inn i et sentrifugerør og jorda ble preparert i henhold til kapittel 3.4. Sentrifugerøret ble tilsatt 10 ml diklormetan og ristet forsiktig på whirlmixer.
- 2) Prøven ble ekstrahert i 10 min på ultralydbad.
- 3) Etter ekstraksjonen ble prøven sentrifugert i 3 min ved 3200 rpm (2000 G) og 4 °C.
- 4) Pkt 1-3 ovenfor ble gjentatt.
- 5) Ekstraktet ble overført til et reagensglass. Tørket natriumsulfat ble tilsatt væskefasen for å fjerne eventuell vann.
- 6) Ekstraktet ble filtrert gjennom et 0,45 µm filter for å fjerne partikulært materiale. Ekstraktet ble samlet i et nytt reagensglass.
- 7) Ekstraktet ble dampet inn til ca 1 ml ved hjelp av en svak nitrogen strøm.
- 8) Det inndampede ekstraktet ble overført til et autosamplerglass og veid. Prøven ble analysert ved hjelp av gasskromatograf-massespektrometer i elektronionisasjon modus (GC-EI-MS). Kalibreringsløsningene og kontrolløsningen ble analysert samtidig med prøven. Kalibreringskurvene ble konstruert ut fra lineær regresjon og ble akseptert hvis regresjonskoeffisienten var bedre enn 0,97. Kurvene ble ikke tvunget gjennom origo.

Instrumentelle parametere som ble benyttet for GC:

Bæregass: helium

Bæregasshastighet: 1 ml/min

Injeksjonsvolum: 1 µl, splitless injeksjon i 60 s

Injektortemperatur: 220 °C

Temperaturprogram: 40 °C (1 min) – 10 °C/min – 280 °C (10 min)

Analysetid: 35 min

Instrumentelle parametere som ble benyttet for MS:

Interface temperatur: 260 °C

Ionekilde temperatur: 190 °C

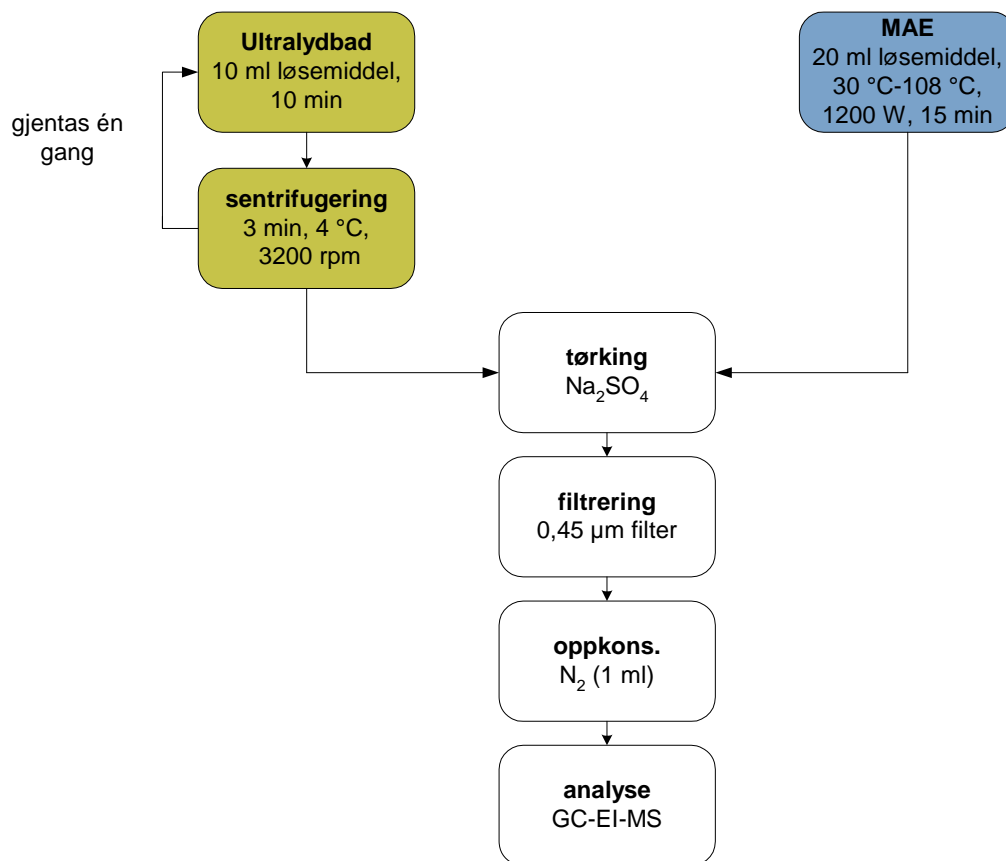
Elektronenergi: 70 eV

Filamentstrøm: 0,15 mA

Scan område: 35 – 600 u

Tid pr scan: 0,5 s

- 9) Ferdig analyserte autosamplerglass og den resterende jorda ble uskadeliggjort ved å tilsette 15% natriumhypoklorittløsning. Standardløsningene ble også destruert på tilsvarende måte.



Figur 3 Flytskjema for opparbeidelse av jord ved hjelp av ultralydbad og mikrobølgeovn.

5.2 Mikrobølgeovn

Jord som var preparert etter kapittel 3.4, ble tilsatt enten 20 ml aceton, diklormetan eller aceton/diklormetan (1:1) (Figur 3). Jorda ble ekstrahert i mikrobølgeovnen ved forskjellige temperaturer fra 30 °C til 108 °C. De resterende parametrene ble holdt lik instrumentets standardverdier:

Effekt: 1200 W

Styrke: 100%

Maksimum trykk: 90 psi

Tid: 15 min

Hold time: 15 min

Røring med magnet: 0 min⁻¹

Prøven ble deretter temperert før den ble opparbeidet slik som beskrevet i pkt 5-8 i kapittel 5.1.

6 Resultater

Det ble gjort sammenlignende forsøk med ekstraksjon av jord i ultralydbad og mikrobølgeovn. Ved ekstraksjon i ultralydbad ble prosedyren beskrevet i ROP, kapittel SP 4.5 benyttet. Ved ekstraksjon i mikrobølgeovn, var det nødvendig å foreta en metodeutvikling. Parametere som løsemiddelsammensetning og temperatur ble optimalisert. Ved forsøkene ble to ulike jordtyper benyttet: mellomleire og mellomsand. Det ble også foretatt en studie av hvilken effekt vannmengden i jorda hadde på gjenfinningen av stridsmidlene ved de to ulike ekstraksjonsmetodene.

6.1 Diklormetan og ultralydbad

I de innledende forsøkene ble det gjort kvantitative analyser av jord som var opparbeidet etter prosedyren beskrevet i ROP, kapittel SP 4.5. I denne metoden benyttes diklormetan og ultralydbad for å ekstrahere kjemiske stridsmidler og relaterte forbindelser fra jorda. Mellomleire og mellomsand med en pH på henholdsvis 5,6 og 6,7 ble preparert, opparbeidet og analysert etter kapittel 3.4 og 5. Det ble gjort forsøk med både tørr og fuktig jord tilsatt soman (GD), sennepsgass (HD) og VX. Resultatene er vist i Tabell 2.

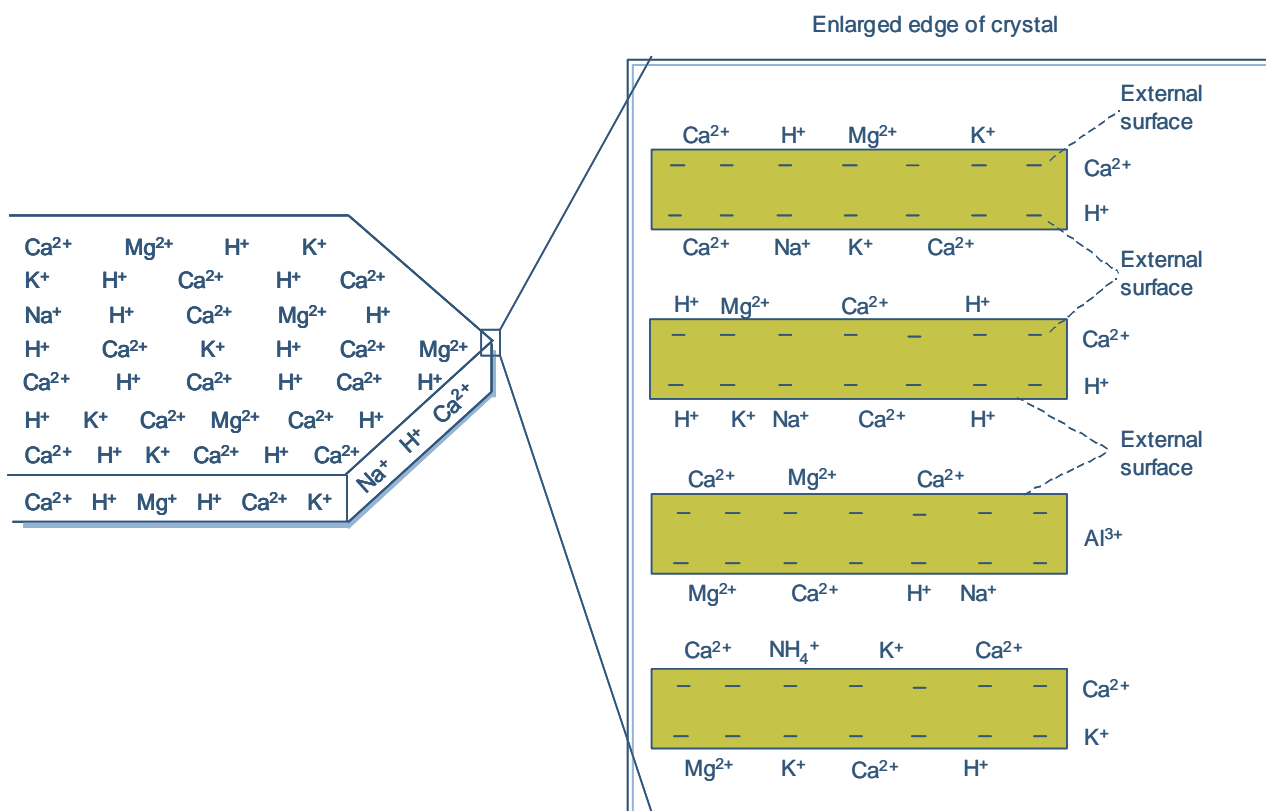
Jordtype	Fuktighet (%)	GD (m ± std)%	HD (m ± std)%	VX (m ± std)%
Mellomleire	0	<1,5 ± 0,1	13,3 ± 1,8	< 1,5 ± 0,1
Mellomleire	3	74,2 ± 4,6	79,0 ± 4,9	< 1,6 ± 0,1
Mellomleire	10	94,7 ± 7,3	92,3 ± 6,8	< 1,5 ± 0,1
Mellomsand	0	62,3 ± 3,7	61,1 ± 6,9	< 3,0 ± 0,1
Mellomsand	3	104,3 ± 7,6	100,1 ± 6,1	55,0 ± 7,7
Mellomsand	10	104,3 ± 4,7	96,7 ± 4,8	51,5 ± 5,5

Tabell 2 Gjenfinningen av GD, HD og VX i tørr/fuktig (%) mellomleire og mellomsand ved bruk av diklormetan og ultralydbad. Prosentvis gjenfinning er gitt som middelveirdi av 5 replikater og et standardavvik, $m \pm std$.

Tabell 2 viser at gjenfinningen av GD, HD og VX fra tørr mellomleire er under 13%. Ved 3 vektprosent vann tilstede i mellomleiren, stiger gjenfinningen av GD og HD til henholdsvis 74% og 79%. Gjenfinningen av disse to analyttene stiger ytterligere til over 90%, når fuktigheten i jorda øker til 10 vektprosent vann. Derimot har økende fuktighet i mellomleire ingen innvirkning på gjenfinningen av VX. Gjenfinningen av VX er under 2% uansett om leiren fuktes eller ikke.

Mellomsand viser de samme tendensene som er blitt observert for mellomleire (Tabell 2). Gjenfinningen av analyttene øker med økende fuktighet i mellomsanden. Ved 3 eller 10 vektprosent vann i sanden er gjenfinningen av GD og HD nærmere 100%, og 50% for VX. For tørr mellomsand er gjenfinningen av GD og HD 60%, og mindre enn 3% for VX.

Resultatene for mellomsand er generelt sett høyere enn det som ble oppnådd for mellomleire. Årsakene til forskjellig gjenfinning fra de to jordtypene, kan skyldes deres ulike fysiske egenskaper. Leire har en mye større overflate enn sand, og vil derfor i mye større grad adsorbere analytter. I tillegg er overflaten til leire negativ, mens mellomsand har en relativt inert overflate (Figur 4). Den negative overflaten til leiren kan binde til seg både vann, stridsmidler og andre forbindelser. Når stridsmidlene påføres fuktet jord, vil leireoverflaten være dekket av vannmolekyler. Stridsmidlene vil da ikke ha like stor tilgjengelighet til de aktive overflatene enn om jorda hadde vært tørr. Dette kan muligens være en forklaring på økende gjenfinning av stridsmidler fra fuktet jord enn fra tørr jord.



Figur 4 Skjematisert framstilling av et silikat leirkrySTALL [8].

Jordprøvenes forskjellige evne til å adsorbere stridsmidler var også en av hovedårsakene til at to ulike kontamineringsnivåer ble benyttet. Mellomleire ble kontaminert til 20 µg/g, mens mellomsand kun ble tilsatt 10 µg/g av GD, HD og VX. Disse verdiene er i overensstemmelse med forventet kontamineringsnivå i en reell jordprøve [9]. I et forurenset område forventes kontamineringsnivået å ligge mellom 100-1000 µg/g jord. Dette er basert på et

kontamineringstetthet på 1-10 g/m², en jordtetthet på ca 1 g/cm³ og en 1 cm prøvedybde. Etter noen timer til dager etter et angrep, vil kontamineringsnivået synke ned til 50 µg/g. Nivået vil gå ytterligere ned ettersom jordprøven utsettes for vær og vind.

Det har også blitt utført forsøk hvor kun diklormetan ble tilsatt 100 µl av 1 mg/ml løsning av GD, HD og VX. Disse prøvene ble preparert og opparbeidet slik som jordprøvene overfor. Gjenfinningen av GD, HD og VX var henholdsvis (112,4 ± 5,3)%, (105,1 ± 4,8)% og (112,2 ± 5,5)%. Resultatene indikerer at de utvalgte stridsmidlene er stabile både under prøveprepareringen og opparbeidelsesprosedyren. Tallene viser også prosedyrens gode gjenfinningsgrad når det gjelder GD, HD og VX.

6.2 Diklormetan og mikrobølgeovn

Etter kvantitative forsøk av jord ekstrahert i ultralydbad (kapittel 6.1), ble tilsvarende forsøk utført i mikrobølgeovn. Siden mellomssand gir relativt bedre gjenfinning av stridsmidlene enn mellomleire, ble kun mellomssand benyttet i de videre forsøkene. Mellomssand ble ekstrahert med diklormetan i mikrobølgeovnen, for å kunne sammenligne resultatene med ultralydbadekstraksjon (Tabell 3). Både tørr og fuktig sand med et kontamineringsnivå på 0,1 mg/g av GD, HD og VX ble studert ved følgende temperaturer i mikrobølgeovnen: 30 °C, 80 °C og 108 °C. Resultatene er vist i Tabell 3.

Fuktighet (%)	Temperatur (°C)	GD (m ± std)%	HD (m ± std)%	VX (m ± std)%
0	30	33,7 ± 2,8	22,1 ± 4,1	< 2,8 ± 0,3
0	80	35,1 ± 4,1	41,8 ± 4,1	< 3,1 ± 0,2
0	108	8,5 ± 2,2	28,6 ± 5,6	< 2,8 ± 0,4
3	30	85,9 ± 5,8	42,9 ± 9,1	40,9 ± 4,0
3	80	112,9 ± 4,0	86,9 ± 7,8	42,8 ± 5,7
3	108	88,9 ± 6,9	55,7 ± 7,9	27,9 ± 2,8

Tabell 3 Gjenfinningen av GD, HD og VX i tørr/fuktig (%) mellomssand ved bruk av diklormetan og mikrobølgeovn. Prosentvis gjenfinning er gitt som middelverdi av 5 replikater og et standardavvik, m ± std.

Ekstraksjonstemperaturene i mikrobølgeovnen har blitt valgt ut fra ulike kriterier. Forsøk ved 30 °C har blitt utført for å sammenlikne resultatene med ultralydbad hvor temperaturen under selve ekstraksjonen er rundt 30 °C. 80 °C har blitt valgt ut fra anbefaling om å ekstrahere i mikrobølgeovnen ved 30-40 °C over kokepunktet til løsemidlet. I dette tilfelle er løsemidlet diklormetan som har et kokepunkt på 39,8 °C ved 1 atm. Maksimum ekstraksjonstemperatur ble satt til 108 °C, siden teflonbeholderne tilhørende mikrobølgeovnen, vil gi utlekking av polymerer til ekstraktet ved høyere temperatur.

Tabell 3 viser at gjenfinningsprosenten av GD og HD fra tørr mellomsand varierer med temperaturen. Ved 30 °C er gjenfinningen av GD 34% og HD 22%. Disse verdiene øker til henholdsvis 35% og 42% ved 80 °C som ekstraksjonstemperatur. Derimot avtar gjenfinningen av GD og HD når temperaturen øker ytterligere til 108 °C. Gjenfinningen av VX fra tørr mellomsand er under 3% ved både 30 °C, 80 °C og 108 °C. Resultatene for ekstraksjonen av tørr mellomsand i mikrobølgeovnen er relativt lavere enn for ekstraksjonen i ultralydbadet (Tabell 2). Ved ekstraksjon av tørr mellomsand i ultralydbad, er gjenfinningen av GD og HD cirka 60%.

Ved 3 vektprosent vann tilstede i mellomsand, observeres de samme tendensene som for tørr mellomsand. Gjenfinningsprosenten øker når temperaturen øker fra 30 °C til 80 °C. Gjenfinningen avtar når temperaturen økes ytterligere til 108 °C. Ved 80 °C er gjenfinningen av GD 113%, HD 87% og VX 43%. Disse tallene er forholdsvis lik resultatene for 3 vektprosent fuktet mellomsand i ultralydbad (Tabell 2). Det er derimot mer sprik i resultatene for HD når ekstraksjonen utføres i mikrobølgeovnen. Ved 80 °C varierer gjenfinningsprosenten for HD fra 16% til 93%. Det samme har blitt observert ved 108 °C. Disse varierende mengdene med HD som blir funnet igjen, skyldes dannelse av hemisennepsgass i ulik grad i prøvene.

I tillegg viser Tabell 3 at gjenfinningen av VX øker når fuktigheten i sanden økes. Ved ekstraksjon ved 80 °C, øker gjenfinningen av VX fra < 3% til 43% ved økende fuktighet. Tilsvarende ble observert ved ekstraksjon i ultralydbad (Tabell 2).

Det har også blitt gjort forsøk hvor 3 vektprosent fuktet mellomsand, ble ekstrahert ved 80 °C i mikrobølgeovnen med røring. Etter ekstraksjonen ble sanden og ekstraktet sentrifugert ved 2000 rpm, 4 °C og 5 min. Deretter ble ekstraktet tilsatt natriumsulfat og dampet inn til 1 ml ved hjelp av nitrogen (kapittel 5). Gjenfinningen av GD var $(88,8 \pm 4,8)\%$, HD $(59,6 \pm 4,8)\%$ og VX $(46,3 \pm 2,1)\%$. Røring under selve ekstraksjonen og sentrifugering i etterkant, gir ingen store endringer i ekstraksjonsutbyttet enn hva som har blitt oppnådd tidligere.

Det har også blitt utført forsøk hvor kun diklormetan ble tilsatt 100 µl av 1 mg/ml løsning av GD, HD og VX. Disse prøvene ble preparert og opparbeidet slik som jordprøvene overfor. Gjenfinningen av GD, HD og VX var henholdsvis $(93,6 \pm 7,8)\%$, $(95,4 \pm 8,3)\%$ og $(88,5 \pm 6,0)\%$. Resultatene indikerer at de utvalgte stridsmidlene er stabile både under prøveprepareringen og opparbeidelsesprosedyren. Tallene viser også prosedyrens gode gjenfinningsgrad når det gjelder GD, HD og VX.

Det ble også gjort forsøk med ekstraksjon av mellomleire i mikrobølgeovnen ved 108 °C. Gjenfinningen av samtlige stridsmidler var $(< 1,5 \pm 0,2)\%$.

6.3 Aceton

Etter forsøkene med diklormetan som ekstraksjonsmiddel i både ultralydbad og mikrobølgeovn, ble et mer polart løsemiddel valgt. Det ble derfor gjort forsøk med ekstraksjon av mellomsand ved de to ekstraksjonsteknikkene, med aceton som løsemiddel. Tørr og 3 vektprosent fuktet sand ble benyttet under forsøkene. Resultatene er vist i Tabell 4.

Metode	Fuktighet (%)/ Temperatur (°C)	GD (m ± std)%	HD (m ± std)%	VX (m ± std)%
Ultralydbad	0/30	90,6 ± 3,1	110,1 ± 2,9	25,8 ± 1,4
Ultralydbad	3/30	84,4 ± 4,8	51,4 ± 4,7	48,8 ± 2,6
Mikrobølgeovn	0/30	33,1 ± 0,9	51,1 ± 1,7	26,8 ± 2,4
Mikrobølgeovn	0/60	40,2 ± 4,3	67,5 ± 4,8	25,3 ± 2,1
Mikrobølgeovn	0/90	54,6 ± 2,9	95,2 ± 2,0	26,8 ± 1,8
Mikrobølgeovn	0/100	56,0 ± 3,4	92,8 ± 5,0	21,1 ± 2,0
Mikrobølgeovn	3/90	83,2 ± 5,0	20,4 ± 2,9	37,0 ± 4,5

Tabell 4 Gjenfinningen av GD, HD og VX i tørr/fuktig (%) mellom sand ved bruk av aceton. Prøvene ble ekstrahert i mikrobølgeovn og ultralydbad. Prosentvis gjenfinning er gitt som middelerverdi av 5 replikater og et standardavvik, $m \pm \text{std}$.

Ekstraksjonstemperaturene i mikrobølgeovnen har blitt valgt ut fra de samme kriteriene som ble nevnt for diklormetan (kapittel 6.2). Aceton har et kokepunkt på 56,2 °C ved 1 atm. Av den grunn ble ekstraksjonstemperaturer på 90 °C og 100 °C valgt (Tabell 4). 60 °C ble valgt for å unngå for stor avstand mellom målepunktene.

Tabell 4 viser at gjenfinningen av alle de tre stridsmidlene fra tørr mellom sand ved bruk av ultralydbad og aceton er relativt høyere enn ved ultralydbad og diklormetan. Ved bruk av aceton er gjenfinningen av GD, HD og VX henholdsvis 91%, 110% og 26%. De tilsvarende tallene for ultralydbad og diklormetan er 62%, 61% og 3% (Tabell 2). Ved sammenligning av gjenfinningen for fuktet sand med tørr sand, halveres gjenfinningen av HD (Tabell 4). Analyse ved GC-EI-MS viser at HD blir brutt ned til thiodiglykol. Derimot doubles gjenfinningen til VX, mens GD holder seg uendret.

Ved ekstraksjon i mikrobølgeovn øker gjenfinningen av GD og HD fra tørr sand med økende temperatur (Tabell 4). Gjenfinningsgraden ved 90 °C og 100 °C endres relativt lite. Ved 90 °C er gjenfinningen for GD 55%, HD 95% og VX 27%. Tørr mellom sand har også blitt ekstrahert med aceton ved 108 °C, men HD brytes ned til thiodiglykol og hemisennepegass.

Tabell 4 viser også at ekstraksjon av fuktet sand ved 90 °C, gir økt gjenfinning av GD og VX, men gjenfinningen av HD avtar. HD brytes ned til thiodiglykol når fuktig sand ekstraheres med aceton.

6.4 Aceton/diklormetan

En blanding av aceton og diklormetan (1:1) ble tilslutt brukt som ekstraksjonsmiddel. Tørr og fuktet mellomsand spiket med stridsmidler ble ekstrahert ved hjelp av enten ultralydbad eller mikrobølgeovn. Gjenfinningen av GD, HD og VX ved disse forsøkene er gitt i Tabell 5.

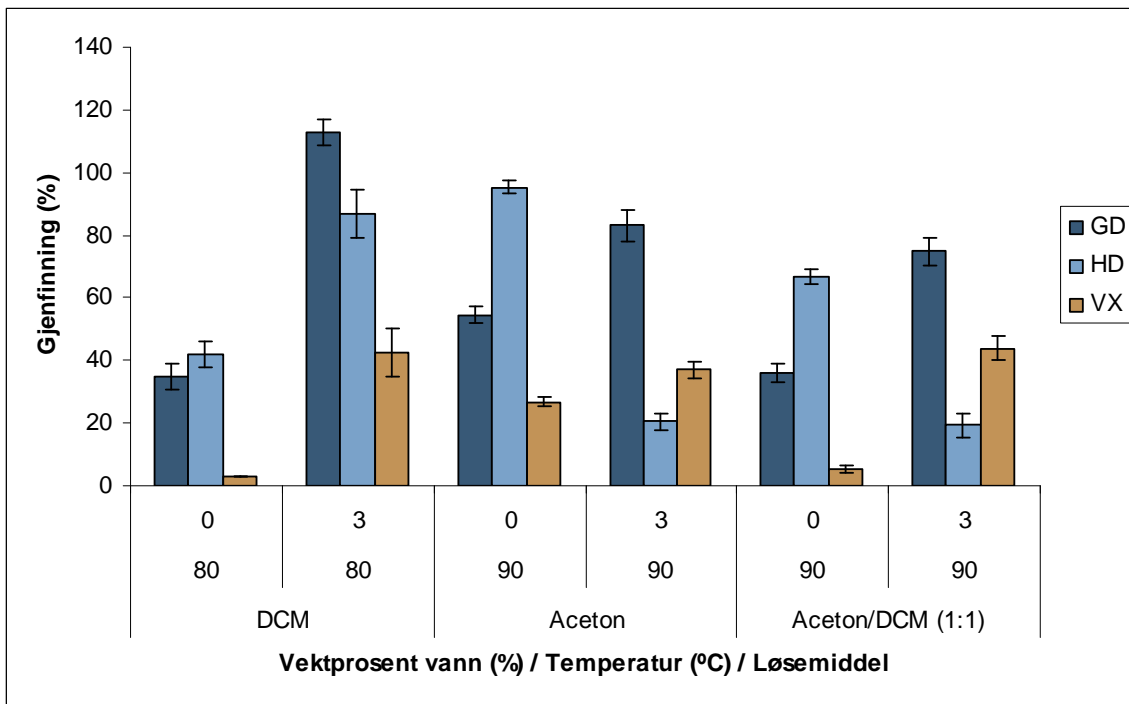
Metode	Fuktighet (%)/ Temperatur (°C)	GD (m ± std)%	HD (m ± std)%	VX (m ± std)%
Ultralydbad	0/30	65,0 ± 5,5	83,1 ± 5,5	6,2 ± 1,2
Ultralydbad	3/30	78,8 ± 1,9	76,4 ± 1,6	40,3 ± 3,9
Mikrobølgeovn	0/30	26,0 ± 5,9	45,1 ± 6,8	8,3 ± 1,6
Mikrobølgeovn	0/90	35,8 ± 2,9	66,9 ± 2,3	5,5 ± 2,4
Mikrobølgeovn	0/108	33,8 ± 3,1	67,6 ± 5,0	5,2 ± 1,7
Mikrobølgeovn	3/90	74,8 ± 4,5	19,2 ± 3,7	43,8 ± 5,2

Tabell 5 Gjenfinningen av GD, HD og VX i tørr og fuktig (%) mellomsand ved bruk av aceton. Prøvene ble ekstrahert i mikrobølgeovn og ultralydbad. Prosentvis gjenfinning er gitt som middelvei av 5 replikater og et standardavvik, $m \pm std.$.

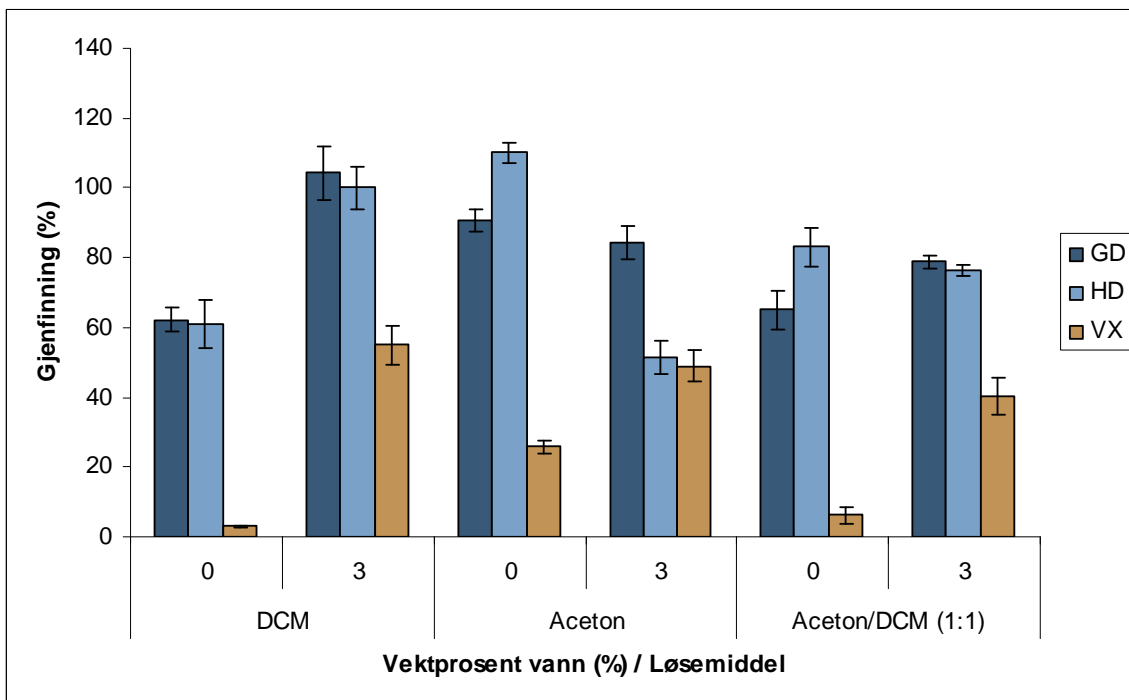
Tabell 5 viser at gjenfinningen av stridsmidlene ikke øker ved å ekstrahere mellomsanden i mikrobølgeovn framfor ultralydbad, når en blanding av aceton og diklormetan (1:1) brukes som ekstraksjonsmiddel. Tabell 5 viser også at fuktet mellomsand gir høyere gjenfinning av GD og VX enn tørr sand, ved ekstraksjon i enten ultralydbad eller i mikrobølgeovn. Gjenfinningen av HD endres ikke ved fuktighet tilstede i mellomsanden når ekstraksjonen skjer i et ultralydbad. Derimot avtar gjenfinningen av HD med 3,5 ganger når fuktet mellomsand ekstraheres i mikrobølgeovn i forhold til ekstraksjon av tørket mellomsand.

Som oppsummering, viser det seg at aceton gir høyere gjenfinning av stridsmidlene fra tørket mellomsand enn aceton/diklormetan (1:1) og diklormetan, når sanden ekstraheres i mikrobølgeovn (Figur 5). Derimot gir diklormetan høyere gjenfinning enn aceton og aceton/diklormetan, når mellomsanden er fuktet (Figur 5). Ekstraksjon av fuktet mellomsand i mikrobølgeovn gir derimot ikke økt gjenfinning for CWA enn ved ekstraksjon i ultralydbad med diklormetan som ekstraksjonsmiddel (Figur 6).

Ved bruk av ultralydbad er gjenfinningen av samtlige stridsmidler fra tørr jord høyest ved bruk av aceton som ekstraksjonsmiddel istedenfor diklormetan og aceton/diklormetan (1:1) (Figur 6).



Figur 5 Gjenfinningen (%) av GD, HD og VX fra mellomsand (n = 5) ved MAE. Gjenfinningen er gitt ved optimum ekstraksjonstemperatur for løsemidlene.



Figur 6 Gjenfinningen (%) av GD, HD og VX fra mellomsand (n = 5) ved ultralydeksktraksjon. Ekstraksjonen ble utført med forskjellige løsemidler.

7 Konklusjon

I denne studien har mikrobølgeteknikk blitt anvendt til å ekstrahere soman, sennepsgass og VX fra karakterisert jord. Gjenfinningen av CWA som fås ved denne teknikken har blitt sammenlignet med standardmetoden som er basert på ultralydbad [1]. Mikrobølgeteknikk gir ingen signifikant forbedring i gjenfinningen av CWA fra sand sammenlignet med standardmetoden [1] (Figur 5 og 6). Ved bruk av begge ekstraksjonsteknikkene varierer gjenfinningen av CWA med jordtypen. Sand gir høyere gjenfinning av de valgte stridsmidlene enn leire.

I tillegg er gjenfinningen av stridsmidlene fra fuktet sand (3%, v/v) høyere enn fra tørket sand. Ekstraksjon av HD fra fuktet sand med løsemidler som inneholder aceton, reduserer gjenfinningen 3-5 ganger sammenlignet med gjenfinningen av HD fra tørket sand.

Diklormetan gir større gjenfinning av CWA fra fuktet sand (3%, v/v) enn aceton og aceton/diklormetan (1:1). Derimot gir aceton som ekstraksjonsmiddel større gjenfinning av CWA fra tørket sand enn diklormetan og aceton/diklormetan (1:1).

Referanser

- [1] M. Rautio, *Recommended Operating Procedures for Sampling and Analysis in the Verification of Chemical Disarmament*, 1994 ed. Helsinki: The Ministry for Foreign Affairs of Finland, 1994.
- [2] F. Hussain, J. A. Tørnes, A. Strømseng, and Å. Ukkelberg, "Extraction of Chemical Warfare Agents from Different Soils," in *Seventh International Symposium on Protection Against Chemical and Biological Warfare Agents* Umeå: Swedish Defence Research Agency, 2001, p. 40.
- [3] F. Hussain, "Test av beholdere for innsamling av miljøprøver i forbindelse med verifikasjon av kjemiske stridsmidler," Kjeller, FFI/RAPPORT-2000/03807, 2000.
- [4] H. K. Rosslund and A. Johnsen, "Sammenheng mellom konsentrasjon av PCB i sedimenter, sjøvann og biota," Kjeller, FFI/RAPPORT-2004/03399, 2004.
- [5] A. Johnsen and M. Ljønes, "Målinger av miljøgifter i slam fra sandfangkummer ved Haakonsvern Orlogsstasjon," Kjeller, FFI/NOTAT-2002/00815, 2002.
- [6] M. C. Hernandez-Soriano, A. Pena, and M. D. Mingorance, "Response surface methodology for the microwave-assisted extraction of insecticides from soil samples," *Anal Bioanal Chem*, vol. 389, pp. 619-630, 2007.
- [7] Z. Witkiewicz, M. Mazurek, and J. Szulc, "Chromatographic analysis of chemical warfare agents," *J. Chromatogr.*, vol. 503, p. 293, 1990.
- [8] N. C. Brady and R. R. Weil, *The Nature and Properties of Soils*, 11 ed. New Jersey: Prentice Hall, 1996, p. 243.
- [9] P. A. D'Agostino, J. R. Hancock, and L. R. Provost, "Determination of sarin, soman, and their hydrolysis products in soil by packed capillary liquid chromatography-electrospray mass spectrometry," *J. Chromatogr. A*, vol. 912, pp. 291-299, 2001.

Appendiks

Arbeidet har blitt presentert ved følgende symposier (se appendiks A.1 og A.2):

- Tenth International Symposium on Advances in Extraction Techniques, Brugge, Belgia, 28. – 30. januar 2008.
- Public Safety and Security, Brugge, Belgia, 30. januar 2008.

A.1 Abstrakt

MICROWAVE ASSISTED EXTRACTION OF CHEMICAL WARFARE AGENTS FROM SOIL

Fatima Hussain

Protection Division, Norwegian Defence Research Establishment, PO Box 25, N-2027 Kjeller, Norway
(fatima.hussain@ffi.no)

In order to verify alleged use of chemical warfare agents (CWA), it might be necessary to collect samples from battlefields, industrial sites or storage sites. Several different sampling materials should be considered, but soil and water are probably readily available at almost all sites. Presently, the Norwegian Defence Research Establishment (FFI) is studying newer extraction techniques for the determination of CWA in water and soil samples. The purpose is to develop more efficient and faster analytical methods. The developed methods are compared with the recommended operating procedures (ROP) compiled by the Ministry for Foreign Affairs of Finland [1].

We have previously shown that the extraction of CWA from water by solid phase microextraction (SPME) is more successful than ROP, which is based on liquid – liquid extraction (LLE) [2, 3]. Detection limits for some selected CWA in water were 14 to 40 times better with SPME than LLE. In this presentation, we will compare the efficiency of microwave assisted extraction (MAE) to extract CWA from soil to that of the existing ROP-procedure based on sonication. The influence of parameters such as soil type, water content of soil, extraction temperature and solvent composition will be outlined.

- [1] M. Rautio, *Recommended Operating Procedures for Sampling and Analysis in the Verification of Chemical Disarmament*, 1994 ed. Helsinki: The Ministry for Foreign Affairs of Finland, 1994.
- [2] F. Hussain, J. A. Tørnes, A. Strømseng, and Å. Ukkelberg, "Extraction of Chemical Warfare Agents from Different Soils," in *Seventh International Symposium on Protection Against Chemical and Biological Warfare Agents* Umeå: Swedish Defence Research Agency, 2001, p. 40.
- [3] F. Hussain, "Test av beholdere for innsamling av miljøprøver i forbindelse med verifikasjon av kjemiske stridsmidler," Kjeller, FFI/RAPPORT-2000/03807, 2000.

A.2 Poster

Microwave Assisted Extraction of Chemical Warfare Agents from Soil

Fatima Hussain
 Protection Division, Norwegian Defence Research Establishment, P.O. Box 25, N-2027 Kjeller, Norway (fatima.hussain@ffl.no)

Introduction

- The Norwegian Defence Research Establishment (FFI) is presently investigating newer extraction techniques for the identification of chemical warfare agents (CWA) in different matrices. The purpose is to obtain more efficient and faster analytical methods.
- The aim of this study was to develop a method to determine CWA in soil by use of microwave assisted extraction (MAE). The extraction efficiency (%) of CWA by MAE were compared with the existing procedure (ROP) based on sonication [1].
- The influence of the parameters such as water content in soil, extraction temperature and solvent composition on the extraction efficiency of CWA will be outlined.

Investigated CWA

Common name	Abbreviation	Structure	Molecular mass (g/mol)	b.p. (°C)
Soman	GD	<chem>CC(C)(C)OC(=O)F</chem>	161.1	167°
VX	VX	<chem>CC(C)N(C)COP(=O)(OC)OC</chem>	267.3	>100°
Sulfur mustard	ED	<chem>ClCCSCCSCl</chem>	158.1	217°

*The composition of compound.

Sample preparation

Instrumentation

Fisons HRGC8060 gas chromatograph with an AS800 autosampler coupled to a quadrupole mass spectrometer in electron ionisation mode (MS GC).

Column: DB-5MS, 30 m x 0.25 mm with 0.25 µm film thickness (J&W Scientific, Folsom, CA, USA).

Oven program: 40 °C (1 min) – 10 °C/min – 250 °C (2 min).

Injection: 200 °C, splitless for 1 min for injection of 1 µl solution.

Ion source temperature: 100 °C.

Filament current: 0.15 mA.

Scan range: 35 – 600 u.

Scan time: 0.5 s.

Instrument control and data handling: Xactbur version 1.2 with NIST library (2002).

Results

Conclusions

- No significant improvement in extraction efficiency was obtained by MAE of sand spiked with CWA (Figure 4), compared to the use of ROP based on sonication of soil samples with dichloromethane (Figure 3).
- The recovery of CWA increases when the sand is wetted (3 % w/w) compared to dried sand. However, the extraction of HD from wetted sand with solvents containing acetone, reduces the recovery 3 - 5 times compared to the recovery of HD from dried sand.
- Dichloromethane gives greater extraction efficiency of CWA from wetted sand [3 %, w/w] than acetone and acetone/dichloromethane [1:1].

Figure 1 MAE instrument (Photo: FFI).

References

1. HUSSAIN, F. Microwave assisted extraction procedures for sampling and analysis in the verification of chemical disarmament. Thesis at: The University of Bergen, Norway, 2008. Available: <http://www.ffi.no>.
2. WOLFFENDEN, Z.; MATHIAS, M.; HUSSAIN, F. J. Chromatogr. 1999, 373, 219-224.
3. WATSON, S. Chemical warfare agents in chemical weapons: their use and production. Springer, L. N., 2002. 400 pp.
4. WATSON, S. Chemical weapons: their use and production. Springer, L. N., 2002. 400 pp.
5. HUSSAIN, F. Microwave assisted extraction of chemical warfare agents. In: Comprehensive analytical chemistry: sampling and sample preparation for field and laboratory analysis. J. H. J. van der Auweraer, Eds. Wiley, 2005. 1-15.