



2015/2500M-0028

ISSN 1797-3457 (verkkójulkaisu)

ISBN 978-951-25-2750-2 (PDF)

TIIVISTELMÄRAPORTTI (SUMMARY REPORT)

Biohajoava kemiallisten ja biologisten taisteluaineiden tuhoamismenetelmä

Tutkimuksen vastuullinen johtaja: Paula Vanninen

Kemiallisen aseiden kielto- ja verotuskeskus (VERIFIN), Kemian laitos, Helsingin yliopisto, PL 55 (A.I. Virtasen aukio 1), 00014 Helsingin yliopisto, puh. 02941 50444, sposti: paula.vanninen@helsinki.fi

Ullastiina Hakala, Risto Hakala, Harri Koskela, Olli Kostiainen, Maaret Karjalainen

Kemiallisen aseiden kielto- ja verotuskeskus (VERIFIN)

Heikki Seulanto, Tuuli Haataja ja Antti Åhman

Puolustusvoimien tutkimuslaitos (PVTUTKL)

Tiivistelmä

Kemialliset taisteluaineet ja niiden mahdollinen terrorismikäyttö aiheuttavat maailmanlaajuisia turvallisuusuhkaa. Tähän uhkaan varautuminen edellyttää, että joukoilla ja pelastajilla on käytössään ajanmukainen suojarustus ja osaaminen. Suomen puolustusvoimien kehittämän ja käyttämän kemiallisten taisteluaineiden tuhoamismenetelmän korvaaminen ympäristöystävällisemmällä menetelmällä tullee ajankohtaiseksi vuoteen 2020 mennessä. Tässä tutkimuksessa on kehitetty ympäristöystävällistä ja turvallista menetelmää kemiallisten ja biologisten taisteluaineiden tuhoamiseen, jossa pääasialliset reaktiotuotteet olisivat mahdollisimman myrkyttömiä. Projektin aikana saadut tulokset ovat lupaavia ja toksiset kemialliset taisteluaineet on saatu tuhottua täydellisesti. Tuhoamismenetelmällä on saatu VX ja sariini hermokaasut hape-tettua lähes vaarattomiksi etyyylimetyylifosfonihapoksi (EMPA) ja isopropyylimetyylifosfonihapoksi (IMPA). Sinappikaasun (bis(2-kloorietyyli)sulfidin, HD) hajoamistuotteiksi on saatu myös huomattavasti vähemmän haitalliset bis(2-kloorietyyli)sulfoksidi (HD-O) ja 2-kloorietyylivinyylisulfoksidi (CEVS-O). Biologisten taisteluaineiden tuhoamismenetelmän kehitystyö jatkuu yhteistyössä Puolustusvoimien tutkimuslaitoksen kanssa.

1. Johdanto

Yhteiskunnan yhtenä uhkana on tänä päivänä epäsymmetriseen sodankäyntiin perustuva terrorismi. Kemiallisten taisteluaineiden kielto- ja verotuskeskuksen piiriin kuulumattomien valtioiden kemialliset taisteluainevarastot aiheuttavat vaaraa ko. valtioiden ja ympäröivien valtioiden kansalaisille. Vaikka valtaosa valtioista kuuluu jo kemiallisten aseiden kielto- ja verotuskeskuksen piiriin, ei kemiallisten taisteluaineiden valmistukseen ja tuotekehittelyyn liittyvä tietotaito ole hävinnyt. Suomalaiset kriisinhallintajoukot turvaavat rauhaa alueilla, joissa kemiallisten ja biologisten taisteluaineiden käytön uhka on ilmeinen (Afganistan, Libanon). Esimerkiksi CIED-pommit saattavat sisältää kaikkea mahdollista ihmisten vahingoittamiseksi. Uhkaan varautuminen edellyttää, että joukoilla ja pelastajilla on käytössään ajanmukainen suojarustus ja osaaminen, ja tarvittaessa Reach Back¹ -asiantuntijapalvelu taustatukena.

Tällä hetkellä on lukuisia kemiallisia tuhoamismenetelmiä (eli dekontaminaatiomenetelmiä) saa-

¹ Tietyn osaamisalueen asiantuntijoista koostuvaa kokoonpano, joka on tarvittaessa 24/7 käytettävissä antamaan kriisin keskellä tms. oleville joukoille heidän tarvitsemaansa välitöntä tietoa CBRN-aineista.

Postiosoite	Käyntiosoite	Puhelin	s-posti, internet
Postadress	Besöksadress	Telefon	e-post, internet
Postal Address	Office	Telephone	e-mail, internet
MATINE/Puolustusministeriö	Eteläinen Makasiinikatu 8 A	Vaihde 295 160 01	matine@defmin.fi
PL 31	00130 Helsinki		www.defmin.fi/matine
FI-00131 Helsinki	Finland		
Finland			



tavilla kemiallisilla ja biologisilla taisteluaeineilla saastuneiden joukkojen, kaluston ja maaston puhdistamiseen.^{2,3} Menetelmät perustuvat myrkyllisten yhdisteiden kemialliseen hajottamiseen, jolloin yhdisteestä yleensä syntyy huomattavasti vähemmän myrkyllinen muoto. Tuhoamismenetelmän valinnassa, mikäli mahdollista, on tärkeää myös huomioida mitä reaktiotuotteita menetelmässä oletettavasti syntyy, erityisesti kun dekontaminaatio tapahtuu suuressa mittakaavassa. Syntyvät yhdisteet täytyy tunnistaa ja biologiset vaikutukset tuntea (yhdisteen rakenne, LD₅₀, fysikaalis-kemialliset ominaisuudet etc.), jotta dekontaminaatio voidaan onnistu-neeksi. Riittämätön puhdistus on kyseessä silloin kun esimerkiksi VX-hermokaasu reagoi vain hydrolysoitumalla. Reaktiossa syntyvä toksinen yhdiste, EA2192 (LD₅₀ n. 0.63 mg/kg), on lähes yhtä toksinen kuin VX-hermokaasu (LD₅₀ n. 0.1 mg/kg).⁴ Sinappikaasu (LD₅₀ n. 17 mg/kg) taas reagoi emäksisissä tuhoamisliuoksissa eliminaatioreaktiolla muodostamalla pääasiallisena tuotteena divinyylisulfidia (LD₅₀ n. 170 mg/kg), joka on kertaluokkaa vähemmän toksinen kuin itse sinappikaasu.⁴ Sinappikaasun tapauksessa halutuin hajoamistuote olisi hydrolysoivissa tuhoamismenetelmissä syntyvä tiodiglykoli (LD₅₀ 6610 mg/kg).⁴ Hajoamistuotteiden tuntemista voidaan myös käyttää mm. kemiallisten taisteluaeineiden käytön todentamiseen.

Suomen puolustusvoimilla on kaluston kohdepuhdistamiseen mahdollisuus käyttää omaa emulsiota, jota on kehitetty 1990-luvun alkupuolelta lähtien, tai kaupallisia dekontaminaatioliuoksia (esim. GDS 2000, Kärcher Futuretech GmbH). Molemmat edellä mainituista aineista sisältävät useita haitallisia kemikaaleja, jolloin niiden käyttö aiheuttaa aina myös ympäristöriskin (Taulukko 1). Maavoimien esikunta on käynnistämässä Suojelujoukkojen modernisointihankkeen, jossa mahdollisesti tullaan katsomaan suojelun tilaa vuonna 2020 ja tästä eteenpäin. Modernisointihankkeessa pyritään hankkimaan joukoille varusteet, jotka täyttävät 2020-luvun suoritevaatimukset, mukaan lukien ympäristön suojeluvaatimukset. Eräs mahdollisuus korvata ympäristölle haitalliset tuhoamisliuokset on kehittää biohajoavia ioninesteitä sisältäviä liuotinsysteemejä.

Taulukko 1. Emulsion ja GDS-2000 sisältämät yhdisteet (haitalliset merkitty *)

Tuhoamis- liuos	Liuoksen sisältämät kemikaalit	Aktiivinen yhdiste	Odotetut reaktiot
GDS-2000	2-aminobutanolin natriumsuola*, Aminobutanoli*, butanoli*, dietyleenitriamiini	aminoalkoksidi butoksidi	eliminaatio substituutio
Emulsio	Ksyleeni*, kalsiumkloridi talkki, kalsiumhypokloriitti*, Teepol (pesuaine), vesi	hypokloriitti vesi	hapetus hydrolyysi

Ioninesteet ovat viime vuosina tulleet hyvin tunnetuiksi uusina vaihtoehtoisina liuottimina sekä kemian alan tutkijoille että kemian teollisuudelle.⁵ Pelkästään vuonna 2014 ioninesteistä kirjoitettiin yli 6000 tieteellistä julkaisua, joista yli 1300 oli patentteja.⁶ Myös kemiallisten aseiden liukoisuutta ioninesteisiin on tutkittu simulanttityhdisteiden avulla, mutta tutkimukset ovat tois-

² Kim, K., Tsay, O. G., Atwood, D. A. and Churchill, D. G. Destruction and Detection of Chemical Warfare Agents. *Chem. Rev.* 2011, 111, 5345-5403.

³ Seto, Y. Research and Development of Onsite Decontamination System for Biological and Chemical Agents. *J. Health Sci.* 2011, 57, 311-333.

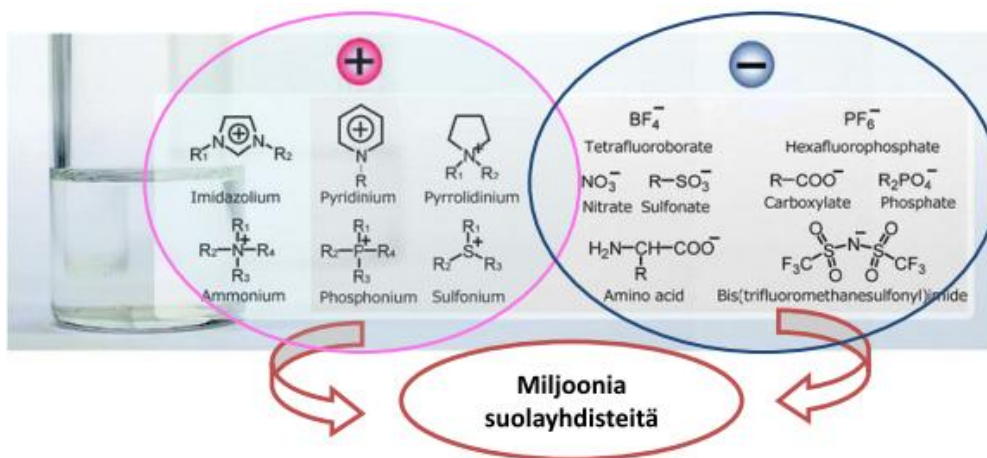
⁴ Munro, N. B., Talmage, S. S., Griffin, G. D., Waters, L. C., Watson, A. P., King, J. F. and Hauschild, V. The Source, Fate, and Toxicity of Chemical Warfare Agent Degradation Products. *Environ. Health Persp.* 1999, 107, 933-974.

⁵ Plechkova, N. V. and Seddon, K. R. Applications of Ionic Liquids in the Chemical Industry. *Chem. Soc. Rev.* 2008, 37, 123-150.

⁶ SciFinder haku 19.11.2015.

taiseksi rajoittuneet pienen mittakaavan kokeisiin ja muutaman ioninesteen tutkimiseen.^{7,8}

Ioninesteen määrittelyä suolayhdisteiksi, jotka ovat nesteitä alle sadassa celsiusasteessa. Ne tavallisesti koostuvat epäsymmetrisestä orgaanisesta kationiosasta, johon orgaaninen tai epäorgaaninen anioni on heikosti koordinoitunut (Kuva 1). Ioninesteiden fysikaalis-kemialliset liuotinominaisuudet poikkeavat edukseen perinteisesti käytettyjen orgaanisten liuottimien ominaisuuksista. Useimmilla ioninesteillä on lähes olematon höyrynpaine (eivät haihdu), ne eivät syty palamaan ja omaavat laajan lämpötila-alueen, joissa ne ovat nestemäisessä olomuodossa. Lisäksi niillä on erinomainen kyky liuottaa erilaisia orgaanisia, epäorgaanisia ja polymeerisiä yhdisteitä. Yksi huomattavin ioninesteiden ominaispiirteistä on liuotinominaisuuksien räätälöiminen käyttötarkoitukseen sopivaksi rakentamalla sopiva kationi-anioni-kombinaatio. Esimerkiksi ioninesteiden vesiliukoisuutta, sulamispistettä, viskositeettia ja tiheyttä voidaan säädellä anionin valinnalla ja/tai kationin alkyyliketju pituudella ja funktionaalisilla ryhmillä. Samoin myös ioninesteen biohajoavuuteen voidaan vaikuttaa kationi-anioni-yhdistelmällä. Koliini-kationipohjaiset ioninesteen ovat biohajoavia, hyvin vähän toksisia ja erinomaisia liuottimia, mutta kiinteitä yhdisteitä yleensä lähellä 0 °C. Koliinikloridin ja vetysidoksen luovuttavan molekyylin (esim. vesi, urea, alkoholit, sokerit) muodostamia eutektisia seoksia⁹ on äskettäin tutkittu uusin mahdollisina liuottimina vihreälle kemian teknologialle.¹⁰ Nämä biohajoavat luonnonyhdisteisiin perustuvat eutektiset seokset omaavat erittäin laajan lämpötila-alueen, jossa ne esiintyvät nesteinä ja ovat erinomaisia liuottamaan mm. makromolekyyliä, kuten DNA:ta ja proteiineja. Kyseiset liuotinominaisuudet tekevät ioninesteistä sisältävistä eutektisista seoksista hyvin potentiaalisia liuottimia kemiallisilla ja biologisilla taisteluaikoina. Yhdessä tehokkaan hapettimen kanssa näistä voidaan kehittää edullinen ja ympäristöystävällinen tuhoamisen menetelmä, erityisesti Suomen talviolosuhteisiin.



Kuva 1. Yleisimpiä ioninesteissä käytettyjä kationeja ja anioneja.

⁷ Wilkes, J. S., Castle, P. J., Levisky, J. A., Corley, C. A., Hermosillo, M. F., Ditson, M. F., Cote, P. J., Bird, D. M., Hutchinson, R. R., Sanders, K. A. and Vaughn, R. L. Decontamination Reactions of Chemical Warfare Agent Simulants with Alcohols in the Basic Ionic Liquid Tetramethylammonium Hydroxide/1,2-Dimethyl-3-propylimidazolium Bis(trifluoromethylsulfonyl)amide. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2008, 47, 3820-3826.

⁸ Wilkes, J. S., Castle, P. J., Levisky, J. A., Hermosillo, M. F., Cote, P. J., Corley, C. A., Montgomery, E. A., Bird, D. M., Hutchinson, R. R. and Ditson, M. F. Decontamination Reactions of Chemical Warfare Agent Simulants in the Common Ion Binary Ionic Liquid 1,2-Dimethyl-3-propylimidazolium/Copper(II) Bis(trifluoromethylsulfonyl)amide. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2009, 48, 6203-6211.

⁹ Eutektinen seos tarkoittaa kahden tai useamman aineen seosta, jonka mooliosuudet ovat sellaiset, että seoksen sulamispiste on mahdollisimman alhainen.

¹⁰ Dai, Y., van Spronsen, J., Witkamp, G.-J., Verpoorte, R. and Choi, Y. H. Natural Deep Eutectic Solvents as New Potential Media for Green Technology. *Anal. Chim. Acta* 2013, 766, 61-68.



2. Tutkimuksen tavoite ja suunnitelma

2.1 Tutkimuksen tavoite

Tutkimuksen tavoitteena on kehittää Suomen puolustusvoimille uusi kemiallisten ja biologisten taisteluaineiden puhdistusmenetelmä henkilöpuhdistukseen, partion henkilöiden ja kaluston, herkkien materiaalien, maaston ja laajamittaiseen kaluston puhdistamiseen. Pää tavoitteena on löytää ympäristöystävällinen ioninesteisiin perustuva taisteluaineita liuottava sekä reaktiivinen puhdistusmenetelmä, jossa lähtöaineet ja pääasialliset reaktiotuotteet olisivat mahdollisimman vaarattomia. Koska nykyään kemiallisille ja biologisille taisteluaineille on omat tuhoamisluok-sensa, tutkimuksessa pyritään myös kehittämään tuhoamisliuos, joka sopii samalla kummallekin taisteluaineryhmälle. Tuhoamisen menetelmän tulisi olla lisäksi käytettävissä kaikissa ilmasto-olosuhteissa, kuten Suomen pakkasessa ja esim. Syyrian lämmössä, sopiva jo olemassa oleviin levitystekniikoihin, laitteistojen sekä pintojen mahdollisimman vähän ruostuttava, edullinen val-mistusta, sopia teolliseen tuotantoon ja olla turvallinen käyttää, kuljettaa ja varastoida.

2.2 Tutkimuksen suunnitelma

Tutkimus on suunniteltu nelivuotiseksi Kemiallisen aseiden kielto sopimuksen instituutin (VERIFIN) ja Puolustusvoimien Tutkimuslaitoksen (PVTUTKL) yhteistyöhankkeeksi vuosille 2014-2017. Tutkimus tulee koostumaan neljästä työpaketista (TP1-TP4, Taulukko 2). Ensimmäisessä työpake-tissa (TP1) tutkitaan kemiallisten aseiden dekontaminaatiota laboratorio-olosuhteissa. Ensisijai-siksi tutkittavaksi kemiallisiksi taisteluaineiksi valitaan VX-hermokaasu ja sinappikaasu, koska nämä yhdisteet ovat fysikaalis-kemiallisen ominaisuuksien vuoksi haastavat yhdisteet dekon-taminoida. Lisäksi tutkitaan sariinin hajoamista, koska kyseistä hermokaasua on käytetty kriisi-alueilla mm. Syyriassa. Hajoamistuotteiden tunnistamisessa ja pitoisuuksien määrittämisessä käytetään ydinmagneettisen resonanssispektrometrian (NMR:n) lisäksi kromatografia-massaspektrometrisia tekniikoita. Toisessa työpaketissa (TP2) tullaan testaamaan biologisten taisteluaineiden B-dekontaminaatiotehokkuus *Bacillus Subtilis* ja *Bacillus Thurengisis* mikrobeilla koeputkiolosuhteissa sekä pinnoilta. Dekontaminaation onnistuminen todennetaan ko. bakteeri-en viljelymaljoilla. Dekontaminaatio maalipinnoilta ja kenttäolosuhteissa tehdään työpaketissa kolme (TP3). Työpaketissa kolme testataan mm. kuinka Mava-reppuruisku soveltuu käytössä olevilla suutinmalleilla tutkittavalle dekontaminaatioliuokselle ja kuinka ruiskun eri osat kestävät liuosta. Testaukset tehdään PVTUTKL:n suojelutekniikan laboratoriossa ja on suunniteltu vuodel-le 2016. Lopuksi neljännessä työpaketissa (TP4) toteutetaan mahdollisen uuden dekontaminaa-tiomenetelmän tuotteistaminen yhdessä Maavoimien esikunnan ja sopivien yritysten kanssa.

Taulukko 2. Tutkimuksen suunnitelma vuosille 2014-2017.

Vuosi	Työpaketti	Työsuunnitelma
2014	TP1	Kirjallisuuskatsaus ja dekontaminaatiomenetelmän kehitys (VERIFIN) VX:n ja sariinin dekontaminaation reaktiokinetiikan tutkimus NMR:llä (VERIFIN) Näytteenkäsittelymenetelmien kehitys ja HD:n hajoamistuotteiden rakenteiden sel-vittäminen GC- ja LC-MS:llä (VERIFIN)
	TP2	Dekontaminaatio B-simulanteilla ja pintatutkimukset (PVTUTKL)
2015	TP1	VX:n ja sariinin näytteenkäsittelymenetelmien kehitys (VERIFIN) VX:n ja sariinin hajoamistuotteiden rakenteiden selvittäminen NMR:llä, GC- ja LC-MS:llä (VERIFIN)
	TP3	Julkaisukäsikirjoitus ja opinnäytetyö (VERIFIN, PVTUTKL) Mava-testaus/kenttäkokeet/pintakokeet (PVTUTKL)
2016	TP1-TP3	Hajoamistuotteiden kvantitointi GC- ja LC-MS/MS:llä (VERIFIN) Hajoamistuotteiden ympäristötoksisuus <i>in vivo</i> ja <i>in vitro</i> (PVTUTKL) Julkaisutoiminta ja kenttäkokeet jatkuvat (VERIFIN ja PVTUTKL)
2017	TP4	Dekontaminaatiomenetelmän mahdollinen tuotteistaminen Puolustusvoimille (VERI-FIN ja PVTUTKL) Kenttälaboratorion ohjeistus (PVTUTKL)



3. Aineisto ja menetelmät

VERIFIN ja PVTUTKL ovat jo vuosia tehneet yhteistyötä erilaisten tutkimushankkeiden parissa. Esimerkkinä näistä voidaan mainita Decon-projekti (vuosina 2008–2010), jossa tutkittiin puolustusvoimien kehittämän emulsion ja kolmen kaupallisen dekontaminaatiomenetelmän (BX-4, GD-5 ja GDS-2000) tehokkuutta hajottaa eri kemiallisia taisteluaineita sekä selvitettiin dekontaminaatioreaktioissa syntyneet reaktiotuotteet.

3.1 Materiaalit

Tuhoamisliuosmenetelmien tutkimus aloitettiin vuonna 2014 biohajoavan ioninesteen (koliinikloridin), vetysidoksen luovuttajan (glyserolin) ja veden eri moolisuhteisilla seoksilla. Koliinikloridin rinnalla tutkittiin koliinibikarbonaattia sisältäviä liuoksia ja glyserolin ohella mm. glukoosia. Koska hapetuksessa ja hydrolyysissä syntyvät vähiten toksiset dekontaminaatioyhdisteet, valittiin aluksi hapettimeksi oksoni (kaliumperoksimonosulfaatti) ja vetyperoksidi. Lähtöaineiden valinnassa kiinnitettiin erityisesti huomiota siihen, että ne ovat ympäristöystävällisiä ja edullisia. Tutkittavina kemiallisina taisteluaineina käytettiin VX ja sariini hermokaasua sekä sinappikaasua.

3.2 Menetelmät

Yhdisteiden hajoamista seurattiin aluksi ydinmagneettisella resonansspektrometrialla (NMR). Hajoamistuotteiden tunnistamisessa ja pitoisuuksien määrittämisessä käytettiin NMR:n lisäksi kaasukromatografia-massaspektrometria (GC-MS) ja nestekromatografia-massaspektrometria (LC-MS) tekniikoita. Liuoksen happamuutta seurattiin pH-mittauksilla. Jotta tuhoamisliuokselle saadaan toimivat fysikaaliset ominaisuudet, kuten laaja käyttölämpötila-alue ja pintojen puhdistukseen sopiva viskositeetti ja vaikutusaika, tuhoamisliuoksien termisiä ominaisuuksia tutkittiin differentiaalisella pyyhkäisykalorimetrillä (DSC) ja termogravimetrisellä analysaattorilla (TGA) ja viskositeetteja DIN-kuppikokeella. Tutkimukset tuhoamisliuoksen käyttäytymisestä maalipinnalla tehtiin PVTUTKL:n toimesta.

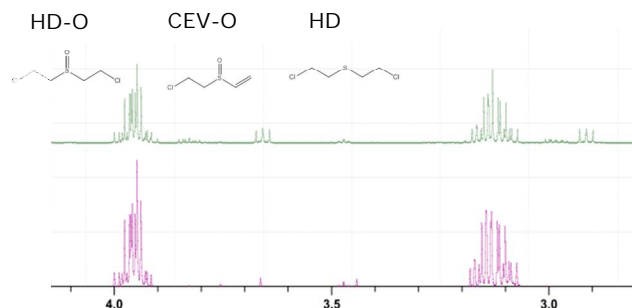
4. Tulokset ja pohdinta

Uuden ympäristöystävällisen dekontaminaatioliuoksen tutkimus aloitettiin vuonna 2014 VERIFIN:illä ioninesteen, vetysidoksen luovuttajan, ja veden erisuhteisilla nk. eutektisilla seoksilla. Lähtöaineina käytettiin veden lisäksi koliinikloridia- ja/tai bikarbonaattia (ionineste) ja glyserolia ja/tai glukoosia (H-sidoksen luovuttaja). Liuosseoksista, joita valmistettiin ensimmäisen vuoden aikana yhteensä 74 erilaista (Biodeco1-74), määritettiin termisiä ominaisuuksia (pakastin testi, TGA ja DSC), pH ja viskositeetti. Lupaavimmilla Biodeco-liuoksilla aloitettiin VX:n ja sariinin tuhoamiskokeet. Biodeco60 (koliinikloridi- glukoosi-vesi 1:1:10) yhdessä 1,5 - 3 m% vetyperoksidiliuoksen (33 m% vesiliuos) todettiin tehokkaimmaksi tuhoamisliuokseksi, jolla VX ja sariini saatiin hajoamaan kokonaan 60 minuutissa. Sinappikaasun hajoamiskokeet aloitettiin loppuvuodesta 2014. Koska Biodeco60 hajotti HD:n lähes kokonaan vasta 4 tunnin reaktioajan jälkeen, vuonna 2015 keskityttiin optimoimaan tuhoamisliuosta sinappikaasun hajottamiseen. Optimointi aloitettiin ensin käyttämällä glyserolia glukoosiin sijaan ja lopulta lisäämällä surfaktanttia, jotta haluttu HD:n liukenemis- ja reaktionopeus saavutettaisiin. Seuraavissa kappaleissa on kerrottu tarkemmin kunkin kemiallisen aseen tuhoamiskokeista.

4.1 Sinappikaasu dekontaminaatio

Ensimmäisenä tutkimusvuotena (2014), sinappikaasun dekontaminaatiokokeissa käytettiin VX- ja sariini-tuhoamiskokeissa tehokkaaksi todettua Biodeco60-liuosta yhdessä 1,5 m% vetyperoksidiliuoksen (HP) kanssa. Kuvassa 2 on esitetty dikloorimetaanifaasista ajettu ¹H-NMR-näyte neljän (yllä) ja 24 (alla) tunnin dekontaminaation jälkeen. Näytteestä saatiin hajoamistuotteiksi sinappikaasusulfoksia (HD-O), jonka a- ja b-protonit näkyvät spektrissä kohdis-

sa 3.15 ja 3.95 ppm ja kloorietyylivinyylisulfoksidi (CEVS-O), jonka vastaavat a- ja b-protonit näkyvät kohdissa 2.95 ja 3.85 ppm. Sinappikaasun a- ja b-protonit näkyvät spektrissä kohdissa 2.9 ja 3.65 ppm. Myös GC-MS:llä ja LC-MS:llä mitatut tulokset tukivat hyvin NMR tuloksia.



Kuva 2. HD reaktio (Biodeco60+HP) ¹H-NMR-spektri neljän tunnin (yllä) ja 24 tunnin (alla) jälkeen.

Toisena tutkimusvuotena keskityttiin optimoimaan Biodeco-liuosta sinappikaasun tuhoamisreaktioihin sopivammaksi. Hypoteesinä HD:n hitaaseen reagoimiseen oli sinappikaasun niukkaliukoisuun käytettyyn Biodeco-liuokseen. Ensimmäiset kokeet tehtiin liuotinseoksilla, jossa vetysidoksen luovuttajana käytettiin pienimolekyylistä glyserolia (vert. Biodeco60: glukoosi) eri moolisuhteissa. Koesarja suoritettiin seuraavalla tavalla: sinappikaasu ja Biodeco-liuos (n. 10 mg/ml) sekoitettiin magneettisekoituksessa. Reaktioseoksesta otettiin näyte (50 µl), joka siirrettiin vesi-dikloorimetaani (1:1) seokseen. Seosta ravistettiin, dikloorimetaanifaasi erotettiin ja analysoitiin tyypillisen näytteenkäsittelyn jälkeen GC-MS:llä. Näytteitä otettiin 10 min välein 60 min asti. Ensimmäinen koesarja Biodeco75:llä eri hapetinmäärien kanssa antoi johdonmukaisia tuloksia: sinappikaasu oli kokonaan hajonnut 1,5 m% HP:n kokeessa 50 minuutissa, 3 m%:lla 30 minuutissa ja 8 m%:lla 20 minuutissa. Kokeita toistettaessa huomattiin tulosten poikkeavan keskenään merkittävästi 10 – 40 min mittauskohdilla. Lisättäessä glyserolin määrää (Biodeco76-78) tilanne ei muuttunut. Silti suurimmassa osassa kokeita sinappikaasu oli pääasiassa reagoinut 60 min mittauskohdalla. Taulukossa 3 on esitetty tutkitut Biodeco-liuokset eri hapetinmäärillä. Reagoimattoman sinappikaasun määrä on esitetty kolmen mittausarjan pienimmän ja suurimman mittauksen määränä.

Taulukko 3. Tutkitut Biodeco-luokset eri hapetinmäärillä ja reagoimattoman HD:n määrä.

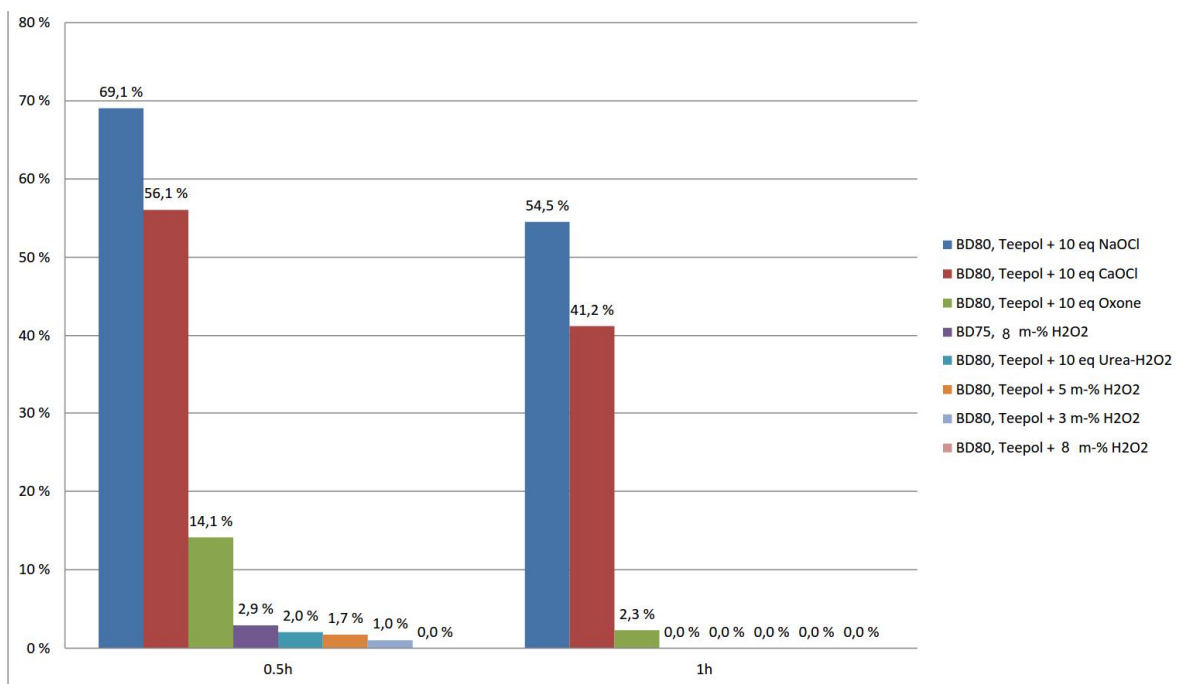
Biodeco	Materiaali	Moolisuhte	H ₂ O ₂ (m-%)	pH	HD (%)	
					30 min	60 min
Biodeco75	ChBc/Gly/Vesi	1:1:10	1,5		6-60 %	0-51 %
Biodeco75	ChBc/Gly/Vesi	1:1:10	3	8.9	4-9 %	0 %
Biodeco75	ChBc/Gly/Vesi	1:1:10	8	8.6	1-13 %	0-(1) %
Biodeco76	ChBc/Gly/Vesi	1:2:10	3	8.9	7-27 %	0-3 %
Biodeco77	ChBc/Gly/Vesi	1:3:10	3	8.9	15-47 %	4-23 %
Biodeco 78	ChBc/Gly/Vesi	1:4:10	3	8.8	32-52 %	0 %

Tulosten epäjohdonmukaisuus aikavälillä 10-40 min todennäköisesti johtui yhä sinappikaasun hitaasta liukoisuudesta ko. Biodeco-liuoksiin. Liukenemisen nopeuttamiseksi kokeiltiin lisätä surfaktanttia, koska eri surfaktantteja on tyypillisesti käytetty vettä sisältävissä tuhoamisliuoksissa (esim. BX-24, E-2000). Näin optimoitu Biodeco80 sisälsi koliinibikarbonaattia, glyserolia ja vettä

suhteessa 1:1:10 ja 4 massa % surfaktanttia (Teepol).

Tuhoamiskokeita jatkettiin käyttämällä ^1H NMR mittauksia reagoimattoman sinappikaasun määrittämiseksi. Koejärjestelyä muutettiin NMR mittauksille sopivaksi niin, että tuhoamisreaktion jälkeen (mittausajankohdat 30 min ja 60 min) koko reaktioseos siirrettiin NMR-putkeen, jossa reagoimaton HD uutettiin CD_2Cl_2 :lla *in situ*. Menetelmä oli hyvin käytännöllinen; CD_2Cl_2 raskaampana faasina painui NMR-putken siihen osaan mistä spektrin mittaaminen tapahtuu.

Tuhoamiskokeita toistettiin tutkimalla nestemäisen HP:n lisäksi myös muita hapettimia kuten kiinteää urea-vetyperoksidia, oksonia, natrium- ja kalsiumhypokloriittia. Tulokset ovat esitelty kuvassa 3. Tuloksista voidaan todeta, että NaOCl ja $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ eivät olleet tarpeeksi reaktiivisia Biodeco80:n pH:ssa, minkä seurauksena vielä tunnin reaktioajan jälkeen yli 40 % HD:stä oli reagoimatta. Oksonin hapetustehokkuus oli huomattavasti parempi, ja tunnin reaktioajan jälkeen reagoimatonta HD:tä oli jäljellä reilut kaksi prosenttia. Tehokkain menetelmä sinappikaasun hajottamiseen saatiin yhdistämällä Biodeco80-liuos nestemäisen tai kiinteän vetyperoksidin kanssa, jolloin puolen tunnin reaktioaika riitti sinappikaasun tuhoamiseen.



Kuva 3. Sinappikaasun hajoaminen eri hapettimilla.

4.2 VX-hermokaasun dekontaminaatio

Ensimmäiseksi tutkittavaksi yhdisteeksi v 2014 valittiin VX-hermokaasu, koska se on haastava ja vaikea yhdiste tuhottavaksi. Lisäksi VX-hermokaasun hajoaminen voitiin helposti todeta VERIFIN:illä käytössä olevien analyysitekniikoiden, kuten 1D ^1H - ^{31}P HSQC NMR:n avulla.¹¹ Tuhoamiskokeet aloitettiin koliinikloridia ja glyserolia sisältävillä Biodeco-liuoksilla, ja hapettimena käytettiin oksonia. Reaktiossa hajoamistuotteiksi saatiin pääasiassa haluttua etyyylimetyylifosfonihappoa (EMPA) sekä koliinin ja etyyylimetyylifosfonihapon substituutiotuotetta (Ch-EMPA). Tunnin dekontaminaatioreaktion jälkeen VX-hermokaasua oli kuitenkin jäljelle huomattavasti, n. 50-90 %, käytetystä liuoksesta riippuen. Seuraavaksi vetysidoksen luovuttajana toimiva glyse-

¹¹Koskela, H., Rapinaja, M.-L., Kuitunen, M.-L. and Vanninen, P. Determination of Trace Amounts of Chemical Warfare Agent Degradation Products in Decontamination Solutions with NMR Spectroscopy, *Anal. Chem.* 2007, 79, 9098-9106.

roli vaihdettiin enemmän hydroksyyliiryhmiä sisältävään glukoosiin (Glu) ja hapettimena oleva oksoni vaihdettiin tunnettuun ja paljon tutkittuun vetyperoksidiin (Taulukko 4). Ilman hapetinta glukoosin lisääminen koliinikloridi-vesi liuokseen puolitti jäljelle jäävän VX-hermokaasun määrän 35 %:sta 17 %:iin, mutta koliinin ja EMPA:n substituutiotuotetta jäi huomattavasti jäljelle (24-30 %). Vetyperoksidin lisäys (1,3 m-%) laski hieman liuoksen pH:ta ja pienensi koliini-EMPA-substituutiotuotteiden määrää n. 2 %:iin. Sädettäessä liuoksen pH:ta kaliumbikarbonaatilla emäksisemmäksi (pH yli kahdeksan), jäi VX-hermokaasua jäljelle vain 0,3 tai 3 % ja substituutiotuotteita jäljelle n. 1 % (Taulukko 4). Koliinikloridi vaihdettiin koliinibikarbonaattiin (ChBc), koska näin ioninesteessä oli valmiiksi puskurina toimiva bikarbonaatti ja liuosten pH:ta ei tarvittu säätää erikseen. DIN-kuppi viskositeettiä varten saatiin moolisuhteella 1:1:5 (ChBc:Glu:Vesi) 39 sekuntia ja kun veden määrä tuplattiin (moolisuhte 1:1:10) saatiin viskositeettiä varten 15 sekuntia. Tuhoamisliuoksen DIN-kuppi viskositeetti tulisi olla välillä 15-30 sekuntia. Vetyperoksidin määrän kasvaessa 0,5 m-%:sta 3 m-%:iin reagoimattoman VX:n määrä pieneni kymmenestä noltaan prosenttiin tunnin dekontaminaation jälkeen.

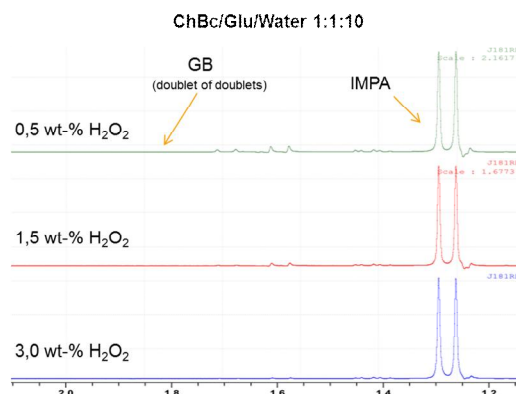
Taulukko 4. Vetyperoksidiä sisältävät tuhoamisliuokset ja jäljelle jäävä VX-hermokaasu dekontaminaation jälkeen.

Näyte	Materiaali	Moolisuhte	H ₂ O ₂ (m-%)	KHCO ₃ (m-%)	pH	VX (%)	Ch-EMPA (%)
Biodeco 33	ChCl/Vesi	1:10	-	-	5,6	35	30
Biodeco 35	ChCl/Glu/Vesi	1:1:30	-	-	5,8	17	24
Biodeco 36	ChCl/Vesi	1:10	1,3	-	4,3	17	2
Biodeco 38	ChCl/Glu/Vesi	1:1:30	1,3	-	4,4	15	2
Biodeco 39	ChCl/Vesi	1:10	1,3	3,5	8,5	3	1
Biodeco 41	ChCl/Glu/Vesi	1:1:30	1,3	3,5	8,1	0,3	1
Biodeco 60	ChBc/Glu/Vesi	1:1:10	1,5	-	8,7	1	2
Biodeco 60	ChBc/Glu/Vesi	1:1:10	3	-	8,5	0	1

VX:n tuhoamiskoe toistettiin vuoden 2015 aikana kehitetyllä Biodeco80/HP-menetelmällä, jolloin VX saatiin kokonaan hajoamaan 30 minuutissa.

4.3 Sariinin dekontaminaatio

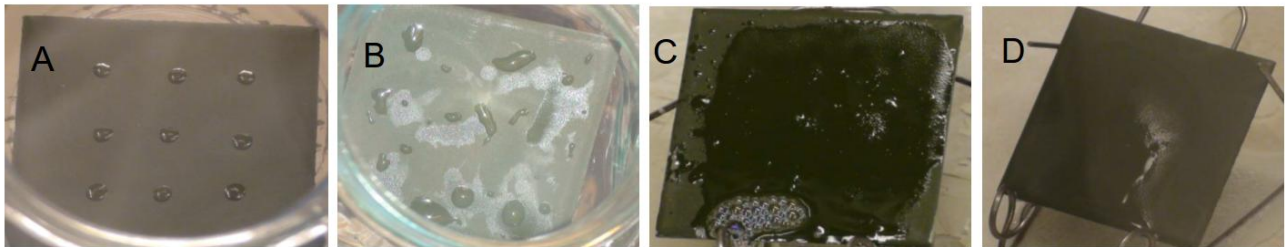
Sariinin (GB) dekontaminaatiokokeet suoritettiin samalla Biodeco60/HP-menetelmällä kuten edellisessä kappaleessa kuvattu VX:n dekontaminaatio. Sariini tuhoutui kokonaan tunnissa jo hyvin pienillä vetyperoksidipitoisuuksilla (0,5 m-%) ja hajoamistuotteeksi tuli lähes myrkytöntä isopropyylimetyylifosfonihappoa (IMPA) (Kuva 4). Samoin Biodeco80/HP menetelmä osoittautui hyvin tehokkaaksi, missä sariinin tuhoamiseen riitti 30 minuutin vaikutusaika.



Kuva 4. Sariinin 1D ¹H-³¹P HSQC-spektrit tunnin dekontaminaation jälkeen eri vetyperoksidipitoisuuksilla.

4.4 Pintakokeet ja B-dekontaminaatio – PVTUTKL

Alustavat pintakokeet toteutettiin Puolustusvoimien tutkimuslaitoksessa syksyllä 2015 käyttämällä Biodeco80-luosta yhdessä 8-m %:lla nestemäistä vetyperoksidiliuosta. Koesarja tehtiin levittämällä sinappikaasua pisaroina (yhteensä 9 µl, n. 10 mg) polyuretaanimaalilla maalatulle metallilevyllä (4 x 4 cm) (kuva A, imeytysaika 60 min). Koesarja käsitti yhteensä kaksi varsinaista näytettä ja kolme vertailunäytettä. Levyt asetettiin Petri maljan päälle 30° kulmaan. Varsinaiset näytteet huuhdeltiin ensin tuhoamisliuoksella (5 ml) (kuva C, vaikutusaika 60 min) ja sitten vedellä (5 ml) (kuva D). Ensimmäinen vertailunäyte tehtiin ilman pesuja, toinen pesemällä levy vedellä (kuva B) ja kolmas huuhtomalla levy etanolilla. Reagoimaton ja maaliin mahdollisesti imeytynyt sinappikaasu uutettiin heptaani/asetoniliuoksella (9:1) ja analysoitiin GC-MS:llä. Tuloksista voitiin todeta, että se sinappikaasumäärä (n. 6 %), joka tunnin aikana oli imeytynyt maalipintaan, ei reagoinut käytetyn Biodeco80/HP-liuoksen kanssa.



Kuvat Antti Ahman

Alustavat B-dekontaminaatiotutkimukset Biodeco80/3 m-% HP menetelmällä tehtiin käyttämällä *Bacillus athropaeus* -itiösuspensiota PVTUTKL:n proseduurin mukaisesti. Testatulla dekontaminaatioliuoksella ei havaittu 30 - 120 minuutin kontaktiajalla itiöitä tappavaa vaikutusta. Tämä saattaa selittyä käytetyn hapettimen tehottomuudesta ko. itiöille. Kokeet tulisi toistaa hypoklooriittimenetelmällä ja esimerkiksi Biodeco19-liuoksella (koliinikloridi/glyseroli/vesi 1:1:10, pH 6,3).

5. Loppupäätelmät

Ympäristöystävällisiä ioninestettä sisältäviä eutektisia liuotinseoksia ei kemiallisten aineiden tuhoamisessa ole aikaisemmin tutkittu. Tutkimusprojektin aikana valmistettiin ja testattiin yhteensä 80 erilaista seoskombinaatiota, joista tehokkaimmin eri kemiallisia taisteluaaineita liuotti Biodeco60 ja Biodeco80. Käytettynä hapettimen (8 m-% HP tai 20 eq urea-HP) kanssa, kaikki tutkitut kemialliset taisteluaaineet pystyttiin hajottamaan puolessa tunnissa vähemmän haitallisiksi yhdisteiksi. Hajoamistuotteeksi VX-hermokaasulle saatiin haluttua etyyylimetyylifosfonihappoa (EMPA) ja sariinille isopropyylimetyylifosfonihappoa (IMPA). Sinappikaasun hajoamistuotteiksi saatiin huomattavasti sinappikaasua haitattomammat hapetustuotteet bis(2-kloorietyyli)sulfoksidi ja kloorietyylivinyylisulfoksidi.

Tuhoamisliuoksen käyttäytymistä maalipinnalla ja biologisten taisteluaineiden tuhoamistutkimuksissa saatiin projektin aikana alustavia ja suuntaa antavia tuloksia. Tutkimusta jatketaan näiltä osin mahdollisuuksien mukaan.

Tutkimustuloksia pystytään hyödyntämään Suomen puolustusvoimien CBRN- suojelutoiminnassa. Mahdollisen uuden tuhoamisliuoksen jatkojalostus ja tuotteistaminen on tarkoitus toteuttaa yhdessä Helsingin yliopiston Innovaatiokeskuksen, Maavoimien esikunnan ja sopivien kotimaisien yritysten kanssa. Projekti on myös tuottanut uutta tietoa näytteenkäsittelymenetelmistä, erityisesti NMR ja GC-MS tekniikoille. Projektin tuloksista on jätetty patenttihakemus Helsingin yliopiston toimesta. Tulokset tullaan myös julkaisemaan kansainvälisissä tieteellisissä lehdissä.



6. Tutkimuksen tuottamat tieteelliset julkaisut ja muut mahdolliset raportit

Projektissa pidettiin useita tutkijapalavereja vuosina 2014 ja 2015, joissa esitettiin saavutetut tulokset. Tutkijapalavereihin osallistui mahdollisuuksien mukaan VERIFINin henkilökunnan lisäksi puolustusvoimien tekniseltä tutkimuslaitokselta tutkimusalojohtaja Heikki Seulanto ja tutkija Tuuli Haataja. Projektin lopetuskokous pidettiin 24.11.2015 johtoryhmän jäsenten kesken (Paula Vanninen, Ullastiina Hakala, Heikki Seulanto (PVTUTKL), Martyn Earle (Queens University, Belfast, Pohjois-Irlanti)).

- "Biodegradable decontamination method for chemical and biological warfare agents", Steering group meeting, presentation 3.9.2014, Helsinki.
- "Biohajoava kemiallisten ja biologisten taisteluaineiden tuhoamismenetelmä", MATINEn CBRN-jaosto, esitys 23.9.2014, Säkö.
- "Biohajoava kemiallisten ja biologisten taisteluaineiden tuhoamismenetelmä", VERIFIN, esitys 31.10.2014, Helsinki.
- "Ionic liquids in decontamination of chemical weapons", University of Helsinki, Department of Chemistry Science Day, presentation 13.11.2014, Helsinki.
- "Biohajoava kemiallisten ja biologisten taisteluaineiden tuhoamismenetelmä", MATINE seminaari, esitys 18.11.2014, Helsinki.
- Biodecon, Slush Helsinki 11-12.11.2015, Messukeskus Helsinki.
- "Biohajoava kemiallisten ja biologisten taisteluaineiden tuhoamismenetelmä", MATINE seminaari, esitys 18.11.2015, Helsinki.
- Patenttihakemus PCT/FI2015/050790

7. Hankkeen seuraajan lausunto raportista

Tämän nelivuotiseksi suunnitellun hankkeen toisen vuoden tutkimukset ovat käytännössä edenneet suunnitelman mukaisesti. Hankkeessa on keskitytty Biodeco-liuoksen optimointiin sinappikaasun tuhoamisreaktioihin sopivammaksi. Lisäksi hankkeessa on tehty ¹H-NMR-spektrometriä mittauksia reagoimattoman sinappikaasun pitoisuuden määrittämiseksi ja sinappikaasun tuhoamiskokeita muidenkin hapettimien kuin vetyperoksidiliuoksen läsnä ollessa. Toistaiseksi parhaimmaksi sinappikaasun hajottamismenetelmäksi on osoittautunut Biodeco80-liuoksen ja vetyperoksidiliuoksen tai urea-vetyperoksidiadduktin yhdistelmä, jolloin sinappikaasun tuhoamiseen riittää puolen tunnin käsittelyaika. Lisäksi Puolustusvoimien tutkimuslaitoksessa on tehty alustavia kokeita erilaisilla käsitellyillä pinnoilla sinappikaasun ja *Bacillus anthracis* -itiöiden tuhoamismenetelmän arviointia varten.

Raportin esitystapa on poikkeuksellisen selkeä. Kyseessä on nelivuotisen hankkeen kahden ensimmäisen vuoden raportti, joten mielestäni tässä vaiheessa riittää raportin toimittaminen vain sen tarvitsijoille. Valmiit tulokset on suositeltavaa julkaista alan tieteellisessä kirjallisuudessa, mikä onkin tekijöiden suunnitelmissa. Mielestäni hanke on edennyt erinomaisesti ja laaditun tutkimussuunnitelman mukaisesti. Ilahduttavaa on huomata idean esittely Slush Helsingissä tänä syksynä. Lisäksi aiheesta on jätetty patenttihakemus (PCT/FI2015/050790). Hankkeen tuloksia voidaan hyödyntää sellaisenaan puolustusvoimissa, kokonaisuutensa puolesta ja soveltaen yleisessä työsuojelussa.

Viikissä 1.12.2015, Jari Yli-Kauhaluoma, prof