

Lena Sarholm

# **Bakteriella Biosensorer och kemisk detektion, lägesrapport**

TOTALFÖRSVARETS FORSKNING SINSTITUT

Vapen och skydd

147 25 Tumba

FOI-R--0511--SE

Juni 2002

ISSN 1650-1942

**Teknisk rapport**

Lena Sarholm

# **Bakteriella Biosensorer och kemisk detektion, lägesrapport**

<b>Utgivare</b> Totalförsvarets Forskningsinstitut - FOI Vapen och skydd 147 25 Tumba	<b>Rapportnummer, ISRN</b> FOI-R--0511--SE	<b>Klassificering</b> Teknisk rapport
	<b>Forskningsområde</b> 5. Bekämpning	
	<b>Månad, år</b> Juni 2002	<b>Projektnummer</b> E 2003
	<b>Verksamhetsgren</b> 5. Uppdragsfinansierad verksamhet	
	<b>Delområde</b> 51 VVS med styrda vapen	
<b>Författare/redaktör</b> Lena Sarholm	<b>Projektledare</b> Lena Sarholm	
	<b>Godkänd av</b>	
	<b>Uppdragsgivare/kundbeteckning</b> Försvarsmakten	
	<b>Tekniskt och/eller vetenskapligt ansvarig</b>	
<b>Rapportens titel</b> Bakteriella biosensorer och kemisk detektion, lägesrapport.		
<b>Sammanfattning (högst 200 ord)</b> Rapporten redovisar genomfört arbete under första halvåret 2002 i projektet Landmins-system. Teoretisk bakgrund beskrivs för användningen av Bakteriella biosensorer för detektion av mineringar. Det arbete som genomförts samt de resultat som hittills uppnåtts redovisas. Arbetet med att utveckla uppärbetnings- och analysmetoder för luft- och jordprov redovisas liksom pågående arbeten med nedbrytningsbara energetiska salter och polymerer. En vetenskaplig artikel "Response Mechanisms of Thermionic Detectors with Enhanced Nitrogen Selectivity" publicerad i tidskriften Analytical Chemistry 2001, 73 5698-5703 finns bifogad i Bilaga 1. Den beskrivna gaskromatografidetektor används inom minprojekten för att detektera nitroaromater i jord – och luftmatriser.		
<b>Nyckelord</b> Bakteriella biosensorer, kemisk detektion av explosivämnen, landmindetektion		
<b>Övriga bibliografiska uppgifter</b>	<b>Språk</b> Svenska	
<b>ISSN</b> 1650-1942	<b>Antal sidor:</b> 16 s.	
<b>Distribution enligt missiv</b>	<b>Pris:</b> Enligt prislista	

<b>Issuing organization</b> FOI – Swedish Defence Research Agency Weapons and Protection SE-147 25 Tumba	<b>Report number, ISRN</b> FOI-R--0511--SE	<b>Report type</b> Technical report
	<b>Research area code</b> 5. Combat	
	<b>Month year</b> June 2002	<b>Project no.</b> E 2003
	<b>Customers code</b> 5. Commissioned Research	
	<b>Sub area code</b> 51 Weapons and Protection	
<b>Author/s (editor/s)</b> Lena Sarholm	<b>Project manager</b> Lena Sarholm	
	<b>Approved by</b>	
	<b>Sponsoring agency</b> Swedish Armed Forces	
	<b>Scientifically and technically responsible</b>	
<b>Report title (In translation)</b> Bacterial Biosensors and Chemical Detection, progress report.		
<b>Abstract (not more than 200 words)</b> This progress report describes works that have been done during January to June 2002. Description of theoretical background for use of Bacterial Biosensors for detection of mined areas. Work and results carried out during the period are described. Work with development of analytical methods for soil and air samples and also development of more sensitive analytical methods are in progress. Appendix 1: "Response Mechanisms of Thermoionic Detectors with Enhanced Nitrogen Selectivity" published in Journal of analytical Chemistry 2001, 73 5698-5703.		
<b>Keywords</b> Bacterial Biosensors, Chemical detection of explosives, Mine detection		
<b>Further bibliographic information</b>	<b>Language</b> Swedish	
<b>ISSN</b> 1650-1942	<b>Pages</b> 16 p.	
	<b>Price acc. to pricelist</b>	

## Innehållsförteckning

1.	Inledning	sida 5
1.1	Redovisning	sida 5
1.2	Underlag	sida 5
2.	Bakteriella biosensorer	sida 6
2.1	Teoretisk bakgrund	sida 6
2.2	Resultat	sida 8
2.3	Pågående arbeten	sida 9
3.	Detektion av explosivämnen	sida 10
3.1	Jordanalyser	sida 10
3.2	Vattenanalyser	sida 11
3.3	LC-MS analyser	sida 11
3.4	Framtagning av referenssubstanser	sida 12
3.5	Termojonisk detektor	sida 13
4.	Fältmässig gaskromatograf	sida 14
5.	Fortsatta studier med nedbrytbara energetiska salter och polymerer	sida 15
5.1	Energetiska salter	sida 15
5.2	Kort beskrivning av konferens	sida 16
5.3	Några av föredragen	sida 16

Bilaga 1 Response Mechanisms of Thermionic Detectors with  
Enhanced Nitrogen Selectivity

## 1. Inledning

Utveckling av minvapnet pågår på många håll i världen. Minorna görs mer intelligenta och sofistikerade, förses med mer elektronik och multisensorer och olika typer av utläggningssystem används. Nya typer av explosivämnen används vilket gör att minorna kan göras i mindre dimensioner eller med större verkan och med verkan i olika attityder. Nya minsystem avståndsläggas från flyg, helikopter, raketartilleri, granatkastare och fordon mm. Vid internationella insatser kommer svensk trupp att utsättas i första hand för nedgrävda minor (arvet) men också för moderna minsystem beroende på vilka länder eller koalitioner (Nato, FN, EU osv.) som har insatser i området.

För närvarande är forskningen inom projektet inriktat på förbättrade och/eller nya provtagnings-, berednings- och analysmetoder för att kunna detektera mycket låga halter av explosivämnesrelaterade ämnen som läcker ut från nedgrävda objekt. Dessutom studeras de yttre parametrarnas betydelse (klimat och miljö) för nedbrytnings-processerna. Denna forskning har relevant betydelse för mindetektion med kemiska metoder, biosensorer och bakteriella biosensorer.

På uppdrag av SWEDEC har FOI utfört analyser av sprängämnesobjekt ("trotylstav" och trotylblock m/41) samt analys av sprängämnesladdningen i truppmina PMA-3 från f.d. Jugoslavien. Analyserna visar att "trotylstav" innehåller hexotol (hexogen och trotyl) och mycket små halter av isomerer av dinitrotoluen samt isomerer av amino-dinitrotoluen. Trotylblock m/41 består av trotyl som innehåller mycket små mängder dinitrotoluen och amino-nitrotoluen (FOI skrivelser 02-1429).

Analysen av i truppmina PMA-3 visar att sprängämnet utgörs av tetryl (FOI skrivelse 01-3273:6).

Remissyttranden har lämnats över Handbok Am- och minröjning för totalförsvaret (01-1154:8) och Funktionsstudie fältarbeten, delstudie am- och minröjning ( 01-473:9).

### 1.1 Redovisning

Projektet har redovisats vid OPIL/OPL fältarbetsmöte 2002-04-09 och vid ett möte med representanter för KHV KRI MARK, SWEDEC och FMV inom FoT Vapen, verkan och skydd, delområde: Ammunitions- och minröjning. Dessutom har en presentation av projektet skett vid ett besök av representanter från Fö-MIL, Fö-civ, UD-GS-2 och ITEP vid FOI Sensorteknik i Linköping.

### 1.2 Underlag

Underlag till denna rapport har lämnats av Peter Brzezinski (SU), Håkan Carlsson, Ann Kjellström, Erik Holmgren, Patrick Goede och Marita Wanhatalo .

## 2. Bakteriella biosensorer.

Vid SWEDEC:s Ammunitionsröjning konferens som hölls i samarbete med NDRF sommarkonferens i Eksjö juni 1999, presenterades ett föredrag av Robert Burlage från Oak Ridge National Laboratory, USA. Föredragets titel var "Bacteria can be used to detect specific chemicals and provide us with a measurable signal". Presentationen väckte stor uppmärksamhet bland deltagarna i konferensen eftersom det beskrev ett försök att detektera minfält med hjälp av bakterier. Det var ett nytt grepp att försöka få naturligt förekommande jordbakterier att ställa om sig för att "äta" explosivämnesrelaterade substanser i jorden och att därefter få dom att fluorescera. Ett annat område som nämndes är återställandet av gamla skjutplatser och fabriksområden.

Samtidigt hade ett liknande projekt startat vid FOI avdelning NBC-skydd i Umeå. Detta var emellertid en förstudie som skulle pågå i 6 månader och därefter avslutas. Förstudien såg lovande ut och en diskussion startades mellan FOI NBC, FOI Vapen och skydd och Institutionen för biokemi och biofysik vid Stockholms universitet (SU). Detta ledde fram till att minprojektet tog över resultat och de bakterieodlingar som framkommit i förstudien och ett uppdrag lades på SU för att fortsätta arbetet.

### 2.1 Teoretisk bakgrund

I alla jordar finns bakterier, som livnär sig på organiskt material och på detta sätt bryter ner t.ex. döda växter. Dessa bakterier är mycket viktiga för att upprätthålla den ekologiska balansen i naturen. Den metod som avses utvecklas i detta projekt bygger på användning av sådana naturliga bakterier för att detektera förekomsten av landminor i jord. Metoden bygger på att bakterier har en förmåga att mycket snabbt anpassa sig till nya livsvillkor. Om ett nytt ämne introduceras i en viss miljö och detta ämne kan utnyttjas av bakterien som föda, kommer bakterierna att snabbt ställa om sin metabolism på ett sådant sätt att det nya ämnet kan tas upp, brytas ner och infogas i bakteriens ämnesomsättning.

På ett flertal platser i världen finns "avfallsanläggningar" för uttjänta sprängämnen. I många fall läcker sprängämnen, och föreningar som ingår i dessa, ut i jorden. Eftersom dessa föreningar ofta innehåller stora mängder kväve och kol utgör de en mycket attraktiv näringskälla för jordbakterier. När bakterierna känner av förekomsten av dessa ämnen i jorden kommer de att ställa om sin metabolism på ett sådant sätt att sprängämnet kan brytas ner. Detta uppnås genom att bakterien börjar syntetisera enzymer som specifikt bryter ner de ämnen som diffunderar ut i jorden.

Det ämne som skall brytas ner (substratet, som i detta fall är t.ex. TNT eller DNT) binder till ett sensor- och regulatorprotein. Proteinet har en bindningsficka som specifikt binder substratet. Vid

bindning förändras sensorproteinets struktur och det i sin tur gör att proteinet binder till en promotor, d.v.s. en specifik plats på DNA-strängen som aktiverar syntesen av det enzym som bryter ner TNT eller DNT. Med andra ord har bakterien ett återkopplat sensorsystem, som aktiveras av det ämne som skall brytas ner.

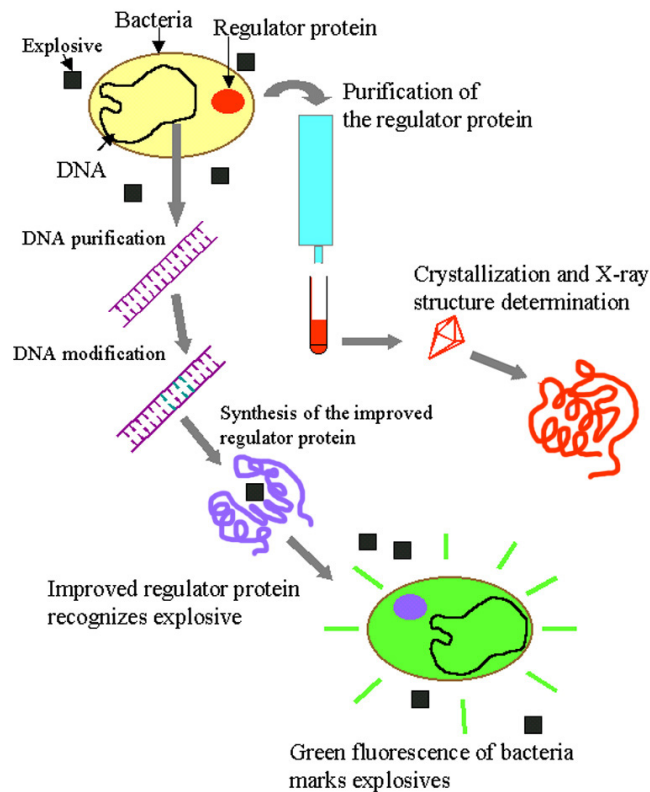


Bild 1. En schematisk bild som visar hur en bakterie kan modifieras så att den kan användas som en biosensor.

I det aktuella projektet utgår vi från en bakterie som naturligt har utvecklat det maskineri som kan bryta ner TNT/DNT. Den del av DNA-strängen som kodar för enzymet har bytts ut mot en DNA-sträng som kodar för ett annat protein, som inte är ett enzym, men som har förmågan att fluorescera. När denna bakterie kommer i kontakt med ett sprängämne, binder substratet till sensor/regulatorprotein, som i sin tur aktiverar promotorn och initierar syntesen av det fluorescerande proteinet - hela bakterien blir fluorescerande. En sensor måste vara specifik för de ämnen som skall detekteras och måste ha en hög känslighet. Med andra ord får sensorn inte ge utslag för ämnen som kan förekomma naturligt i jorden och som har en struktur liknande den som TNT/DNT har. Den bakteriellstam som vi utgår från har en viss känslighet för TNT/DNT, men känsligheten är fortfarande för låg. Dessutom är stammen även känslig för salicylat, vars struktur liknar strukturen hos DNT och TNT. Eftersom detta ämne kan förekomma i jordar, måste den bakteriella biosensorns känslighet för salicylat undertryckas betydligt.



## 2.2 Resultat

Känsligheten för olika substrat är helt beroende på strukturen av den bindningsficka som binder substratet i sensorproteinet. Denna struktur kan modifieras och anpassas på olika sätt. För att uppnå detta använder vi två olika angreppssätt: (1) Ett mycket stort antal varianter av strukturen tillverkas slumpmässigt. Sedan plockas selektivt de varianter ut som är mest känsliga för substratet. Förhoppningsvis är det då möjligt att hitta sådana varianter som inte bara är känsligare för substratet, men som också har mindre känslighet för andra ämnen. (2) Den tredimensionella strukturen för sensorproteinet bestäms. Först måste då proteinet framställas i mycket ren form. Därefter kristalliserar proteinet varefter röntgenkristallografi används för att göra en tredimensionell modell av proteinet.

I bästa fall kan man identifiera bindningsstället för substratet. Om detta skulle visa sig vara svårt kan man gå vidare och kristallisera sensorproteinet i närvaro av olika substrat. I detta fall kommer substratet att synas i strukturen, vilket direkt visar var bindningsstället finns. Utifrån en sådan bild kommer man att ”på ett intelligent sätt” kunna skapa varianter av sensorproteinet som specifikt binder substratet bättre än andra liknande molekyler.

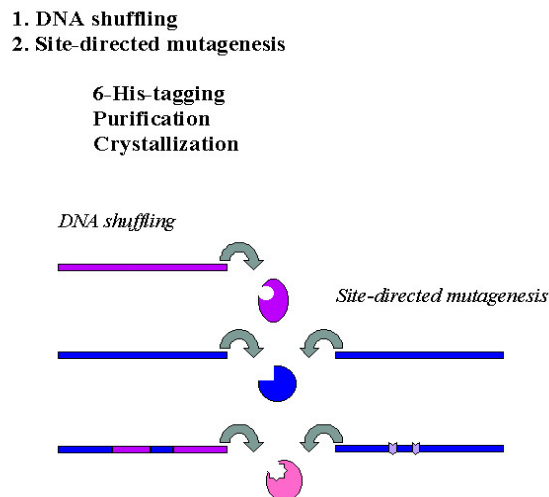


Bild 2. Principen för en teknik som gör det möjligt att förbättra känsligheten för den bakteriella biosensorn.

Hittills har vi lyckats att märka sensorproteinet med en så kallad histidinmarkör, vilket gör det möjligt att separera proteinet från alla andra proteiner i bakterien och på detta sätt erhålla mycket rent protein. Under våren 2001 framställde Irina Smirnova de första kristallerna av proteinet.

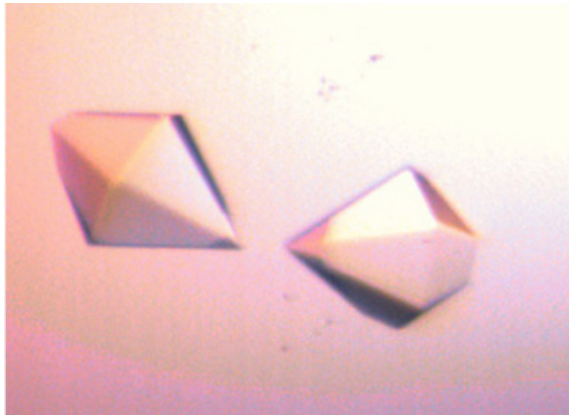


Bild 3. Kristaller av sensorproteinet.

För att undersöka interaktionen mellan proteinet och substraten kristalliserades proteinet i närvaro av olika substrat. Olika kristalltyper erhöles beroende på om substratet var bundet eller inte, vilket indikerar att strukturen ändras vid bindning. Detta är exakt sådana strukturändringar som vi söker efter och observationen antyder därför att substratet binder på rätt ställe.

Kristaller framställdes också i närvaro av “tungta metaller” och ett antal tungatomderivat kunde framställas. Under perioden juli till augusti 2001 samlade Irina in ett flertal “dataset” vid synkrotronen i Grenoble. Utvärdering av dessa data pågår för närvarande. Dessutom odlades bakterier i närvaro av selenometionin, som inkorporerades i proteinet. Nyligen framställde Irina kristaller av dessa derivat. Tyvärr visade sig dessa kristaller vara för små för att möjliggöra datainsamling. För närvarande görs försök med att preparera större kristaller.

### **2.3 Pågående arbeten**

I samband med ett projektmöte på FOI i november 2001 utvecklades planer för det fortsatta arbetet.

- Arbetet med att erhålla en struktur av regulatorproteinet fortsätter (se ovan).
- Under hösten 2001 genomförde Irina en litteratursökning och fann att resultat från liknande projekt vid andra laboratorier inte har publicerats under det senaste året.
- Bindningskonstanten för inbindning av t.ex. DNT och 2,4-diamino-DNT till regulatorproteinet skall undersökas. Ett system för studier av inbindning av olika substrat till

proteinet genom att mäta förändringar i cirkulärdikroism utvecklas för närvarande. Om det visar sig fungera kommer vi att bestämma bindningskonstanterna för de olika ämnena med hjälp av denna metod.

- Försök görs att modifiera bindningssätet genom så kallad riktad evolution, dvs. en slumpmässig omflyttning av gener. Detta resulterar i ett stort antal slumpmässiga varianter av regulatorproteinet. I april påbörjade en student ett ettårigt examensarbete vars avsikt är att preparera sådana varianter av regulatorproteinet.
- Fastställa lägsta koncentrationen av TNT och DNT i jorden för att bakterierna skall börja ställa om sin metabolism på ett sådant sätt att ämnena kan tas upp, brytas ner och infogas i bakteriens ämnesomsättning. Detta arbete är inte påbörjat ännu.

### 3. Detektion av explosivämnen

Under det första halvåret har en mikrovågsugn anskaffats för extraktion av jordprover innehållande mycket små mängder av explosivämnesrelaterade substanser. Vidare har en gaskromatograf för utvecklingsarbete anskaffats eftersom den befintliga GC:n fullt ut användes för analyser av luft och jordprover.

#### 3.1 Jordanalyser

**Extraktion:** Den nya mikrovågsugn har en provkapacitet som tillåter att 36 prover kan extraheras samtidigt. Mikrovågsugnen har optimerats med avseende på extraktionstid, lösningsmedel, effekt samt temperatur. Höga extraktionsutbyten har erhållits för det stora flertalet av nitroaromaterna, 90-100 %. De två föreningar som uppvisar något lägre utbyten, 65-75 %, är de mest polära d.v.s. diaminonitrotouler. En förklaring till de något lägre utbytena kan vara att de uppvisar en högre adsorptivitet till provmatrisen, p.g.a. sin polaritet. Fortsatt optimering pågår för att erhålla utbyten i paritet med de övriga föreningarna.

**Förseparation:** Vid isolering av nitroaromaterna från provmatrisen i syfte att erhålla en homogen fraktion så har provet applicerats på en kort kolonn SPE (Solid Phase Extraction-kolonn) som innehåller ett fastfasadsorbent. Den SPE-fas som användes initialt, uppvisar stora variationer i kvalitet mellan olika ”batchar”, d.v.s Bulkmaterialen är ej väl definierat. Detta har medfört att resultaten har varierat kraftigt mellan olika batchar m.a.p på extraktionsutbytet av nitroaromaterna. Därför har en ny SPE-kolonn utprovats innehållande en mer väldefinierad polymerfas. Denna SPE uppvisar extraktionsutbyten på upp till 100 % för samtliga målsubstanser, med en relativ standardavvikelse på mindre än 5 %.

**Analys:** Gaskromatografen utrustad med en termojonisk detektor samt autoinjektor med en provkapacitet på 99 st. prov per analysomgång, har visat sig vara ett selektivt, känsligt och robust analysystem.

**Sammanfattning:** Analysmetoden fungerar väl och kan appliceras för analys av jordprover kontaminerade med explosivämnen. Analysmetoden uppvisar en mycket låg detektionsgränsen för nitroaromater, 5-200 pg/g jord, med en låg relativ standardavvikelse.

### 3.2 Vattenanalyser

En analysmetod för att analysera nitroaromater, Tetryl, RDX och HMX i ytvatten och grundvatten har utvecklats. Analysmetoden består av High Performance Liquid Chromatography - Mass Spektrometry (LC-MS). Analysmetoden har automatiserats genom att upprensning, separation av de ingående kemiska föreningarna samt detektion sker i ett steg. Detta utförs genom att man on-line kopplar en kort kolonn med "Restricted Access Material" (RAM) för upprensning av matrisen med en analyskolonn för separation samt en masspektrometer för identifikation och kvantitativ analys. RAM består av partiklar med en icke-adsorptiv yta med Reversed-Phase modifierade porer. Genom att låta vattenfasen passera RAM retarderas explosivämnena men inte t.ex. humusämnen. Därefter byter man till ett organiskt lösningsmedel och styr eluentet in på analyskolonnen. Genom att koppla tekniker kan manuella steg elimineras och hela provet kan analyseras i ett enda steg. Två viktiga parametrar påverkas positivt av denna typ av analysteknik: Känsligheten per prov ökar och analys tiden minskar. Analysmetoden uppvisar höga extraktionsutbyten för de ingående kemiska föreningarna samt en låg detektionsgräns.

### 3.3 High Performance Liquid Chromatography - Mass Spektrometry (LC-MS)

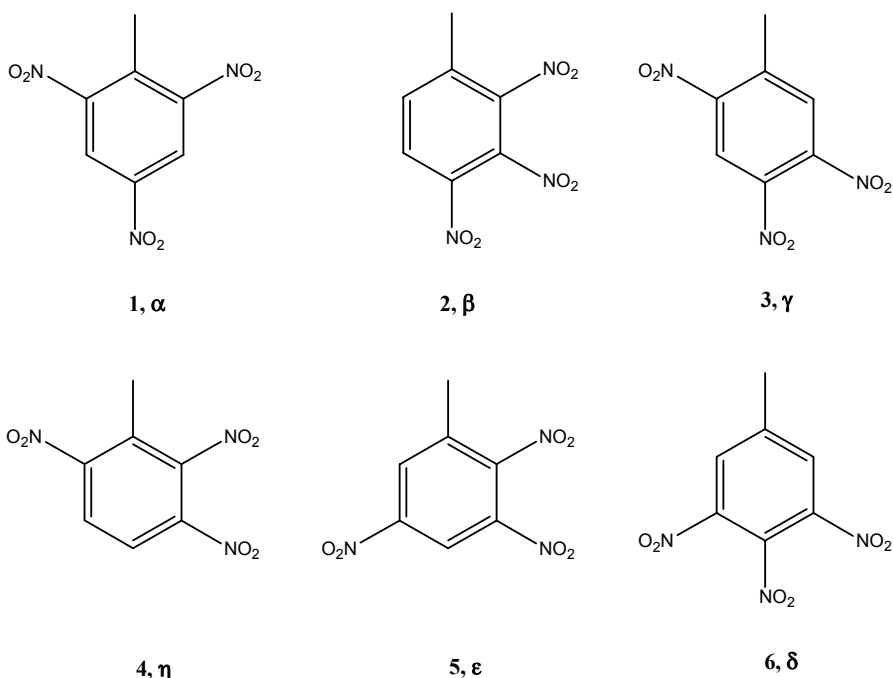
Till det befintliga LC-MS systemet har ett nytt jonisationsinterface, APCI (Atmospheric Pressure Chemical Ionization), införskaffats. Med detta interface kan även DNT-isomerer joniseras och därigenom detekteras i olika provmatriser. En ny analysmetod är under utveckling för att erhålla ett generellt analysystem för att kunna detektera merparten av de explosivämnen som återfinns i olika provmatriser (jord, vatten och luft) i anslutning till minor och OXA. De explosivämnen som man i nuläget erhåller en positiv identifikation av i olika provmatriser är:

2,4,6-TNT	2,4-DNT	1,2-DNB	2,6-Diamino-4-NT
Tetryl	2,3-DNT	1,3-DNB	2,4-Diamino-6-NT
RDX	2,5-DNT	1,4-DNB	2-Amino-4,6-DNT
HMX	2,6-DNT,	1,3,5-TNB	4-Amino-2,6-DNT
Pentyl	3,4-DNT		
CL 20	3,5-DNT		

Metodutvecklingen fortgår med att modifiera mobilfasen så att man får optimal separation på analyskolonnen (HPLC) samt optimal jonisering (MS). När metoden är färdigutvecklad erhålls ett generellt, robust, känsligt analyssystem som lämpar sig väl för ett flertal explosivämnen, vilket även inkluderar de mest termolabila explosivämnena som ej går att analysera m.h.a gaskromatografi. I nuläget kan man separera, identifiera samt kvantifiera ett 20-tal individuella explosivämnen i en och samma analys på 40 minuter med en detektionsgräns på < 1 ng. Detta system lämpar sig även väl för identifiering av föreningar i okända prov, t.ex. vid undersökningar av objekt påträffade vid internationella insatser. Metoden klarar även att snabbt identifiera explosivämnen i diverse okända laddningar.

### 3.4 Framtagning av referenssubstanser

Då man söker efter TNT-fyllda minor är det ofta andra föreningar än TNT som detekteras (eg. DNT). Vi har under en längre tid försökt att sammanställa ett bibliotek bestående av alla tänkbara TNT-prekursorer och TNT-nedbrytningsprodukter. Det som saknats i samlingen har varit trinitrerade toluenderivat där nitrogrupperna inte sitter i 2, 4 och 6 positionerna. Det finns sammanlagt sex stycken trinitroderivat (**1-6**).



Dessa kallas efter det grekiska alfabetet för  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\eta$ ,  $\epsilon$  och  $\delta$  isomerer. Majoriteten av all toluen omvandlas vid TNT framställning till 2,4,6-trinitrotoluen (**1**). Om man ritar ett schema för detta kan det sammanfattas enligt **bild 4** (ref s 328 Urbanski Chemistry and Technology of Explosives Part 1).

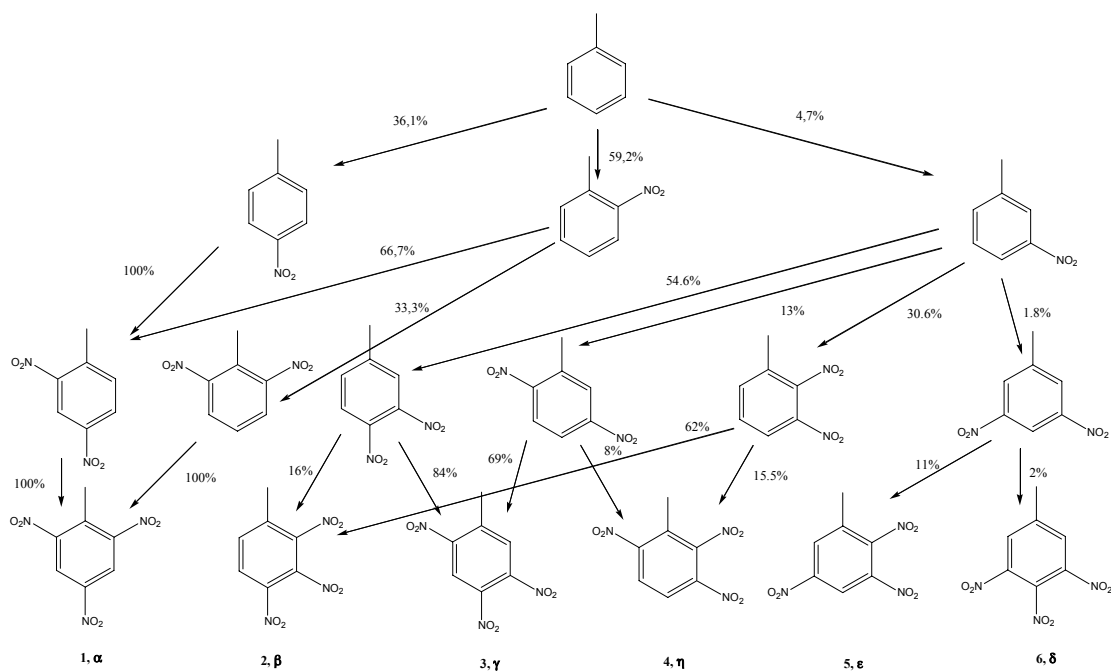


Bild 4

Det som framgår av **bild 4** är att i enlighet med normala substitutionsmönster bildas det 95 % av den normala 2,4,6-trinitrotoluenen (**1**). Produktfördelningen avgörs redan i första steget då 36 % omvandlas till 4-nitrotoluen och 60 % till 2-nitrotoluen. Dessa två isomerer kan sedan endast nitreras vidare till 2,4,6-isomeren av TNT (**1**). Genom att starta från 3-nitrotoluen öppnas möjligheten att framställa de andra 5 isomererna av TNT (**2-6**). Vi nitrerade därför 3-nitrotoluen i en blandning av salpetersyra och svavelsyra vid 100° C varvid en komplex blandning av olika TNT isomerer erhöles. Genom HPLC analys följt av MS analys kunde det konstateras att fyra stycken TNT isomerer fanns i reaktionsblandningen. Dessa kommer att separeras med preparativ HPLC och därigenom renframställas.

### 3.5 Termojonisk detektor

En vetenskaplig artikel om den nitro-selektiva termojoniska GC-detektorns strukturberoende respons har publicerats i den internationella tidskriften *Analytical Chemistry* 2001, 73, 5698–5703. Titeln är "Response Mechanisms of Thermionic Detectors with Enhanced Nitrogen Selectivity" och författad av Håkan Carlsson FOI, George Robertsson och Anders Colmsjö vid Institutionen för analytisk kemi vid Stockholms universitet. (*FOI-S-0432-SE, april 2002*). Se Bilaga 1.

Den termojoniska GC-detektorn (TS 1) används inom minprojektet för att detektera nitro- aromater i jord- och luftmatriser. Denna publikation är en första studie som syftar till att finna ut de samband som ligger till grund för den nitro-selektiva termojoniska GC-detektorns kraftigt varierande respons, beroende på nitroaromaternas molekylära struktur. Detta är av intresse, beroende på att den erhållna kunskapen kan användas till att optimera detektorn samt prediktera vilka molekyler som kan

detekteras. Detektorn uppvisar en hög grad av strukturberoende respons, där strukturella isomerer av nitroaromater kan ha en responskillnad på upp till 100 ggr.

Denna publikation baserar sig på grundforskning om den termojoniska GC-detektorns responsmekanism. Till skillnad från den konventionella NP-detektorn uppvisar den ingen respons för fosfor, opererar i en inert kvävgas miljö samt innehåller en högre halt av cesium. I nuläget finns det ingen helt accepterad teori om hur den fungerar. Den termojoniska GC-detektorn är selektiv för elektronegativa funktionella grupper och multipla halogener och en hypotes som ofta framförs är att de elektronegativa funktionella grupperna i molekylerna extraherar elektroner från den termojoniska proben samt bildar negativa joner som kan detekteras. Publikationen påvisar att detektorn uppvisar ytterligare responsmekanismer genom att använda analyter utan elektronegativa funktionella grupper. De responsmekanismer som påvisats är att analyter som innehåller sura protoner uppvisar en strukturberoende respons, med en linjär korrelation mellan deprotoneringsenergin och den relativa detektorresponsen. Analyter som innehåller surare protoner uppvisar en kraftigare detektorrespons. Vidare påvisas i publikationen att den inerta detektorgasen påverkar detektorresponsen, ju lägre termisk konduktivitet gasen uppvisar ju kraftigare detektorrespons fås för molekyler med sura protoner. I publikationen har kvantmekaniska beräkningar använts där molekylernas geometri, dipolvektor, polariserbarhet, elektronaffinitet, deprotoneringsenergi samt laddningsfördelning beräknats för varje enskild molekyl. Vidare har multivariat dataanalys använts för att söka efter struktur och korrelation i beräknad data, (Principal Component Analysis (PCA) och Partial Least Squares (PLS)).

#### 4. Fältnässig gaskromatograf

Utveckling av den fältnässiga gaskromatografen för detektion av explosivämnen i fält fortgår. Projektet har bedrivits med reducerad fart, beroende på att den doktorand som utför den huvudsakliga arbetet har varit pappaledig en tid. En student kommer att utföra sitt examensarbete inom projektet fr.o.m. juni och sex månader framåt. Metodutvecklingen kommer att ske med inriktning på att utvärdera olika adsorbent för luftprovtagning med fokus på att erhålla optimal adsorptivitet med hänsyn taget till parametrar som flödes hastighet, mottryck och provtagningstid. Vidare kommer den termiska desorberingsenheten att optimeras m.a.p tid, flöde samt temperatur för både desorberingen och kylfällan. Optimering av kromatografen och detektion, för att säkerställa den kvantitativ analysen, kommer även att utföras. Vid utvärdering av den fältnässiga gaskromatografen kommer provtagning att utföras i laboriemiljö samt vid FOIs testfält i Grindsjön.

## 5. Fortsatta studier med nedbrytningsbara energetiska salter och polymerer.

Utvecklingen av sofistikerade och intelligenta minsystem med större verkan och mindre dimensioner gör att större krav ställs på funktioner såsom självdestruktion eller självdeaktivering. Ett sätt att åstadkomma detta är att använda nedbrytbara energetiska salter i kombination med nedbrytbara plasthöljen. I en inledande studie har två energetiska salter, guanidindinitramid (GDN) och guanidinureadinitramid (GUDN), och flera bionedbrytbara polyestrar studerats med avseende på termisk stabilitet och kemisk kompatibilitet (se *FOA Memo 00-4576/S*). GUDN hade något bättre termisk stabilitet än GDN. Av ett antal bionedbrytbara plaster har två stycken valts ut för att testas som höljesmaterial till GUDN och GDN. Den ena plasten består av en polyestersampolymer och den andra plasten är baserad på majsstärkelse. I november 2000 placerades prover ut på ett testfält för att undersöka nedbrytbarheten hos dessa i kombination med GDN och GUDN (se *FOA Memo 00-5995/S*). Det visade sig tidigt att ren GDN bröts ned/löstes upp väldigt snabbt, ca 1 vecka (se *FOI Memo 01-2292*).

Den inledande studien har visat på att rent principiellt är det möjligt att tillverka självdeaktiverande laddningar baserat på nedbrytbara explosivämnen och nedbrytbara plaster. Som en fortsättning på detta arbete skall andra typer av energetiska salter och nedbrytbara plaster studeras. För att vidga studien skall som komplement till ”in vivo”-studier (dvs. studier utomhus under verkliga förhållanden) även ”in vitro”-studier utföras (dvs. simulerad och/eller accelererad åldring av explosivämnen/nedbrytbara plaster ensamma och i kombination med varandra).

I den fortsatta studien kommer de olika salterna och polymerernas nedbrytning ute i fält studeras var för sig. Då nedbrytningen av främst salterna kan ske inom några dagar kommer dagliga mätningar att utföras. Tre olika energetiska salter och ett antal nya polymerer kommer att studeras tillsammans med de polymerer som ingått i den tidigare studien.

### 5.1 Energetiska salter

Då tidigare försök med GDN och GUDN visat att dessa energetiska salter bryts ner i naturen har det funnits ett intresse att pröva andra föreningar och deras beteende. Därför har 50 g av ett annat energetiskt salt framställts och under året kommer detta salt att utvärderas tillsammans med biologiskt nedbrytbara polymerer.

För att få idéer och eventuellt hitta ytterligare användbara polymerer till denna studie har konferensen "International Congress & Trade Show, The Industrial Applications of BioPlastics 2002" besökts.



## **5.2 Kort beskrivning av konferensen "International Congress & TradShow, The Industrial Applications of BioPlastics 2002".**

Konferensen "International Congress & Trade Show, The Industrial Applications of BioPlastics 2002" organiserades av Europoint på uppdrag av IENICA-INFORRM och hölls under 2 dagar i York, England. Deltagare från FOI var Marita Wanhatalo. På konferensen presenterades ca 22 muntliga föredrag och ca 10 företag hade poster-presentationer. Den första dagens ämne var Sustainable plastics och dag två behandlade The Industrial Applications of Bioplastics. Litteratur om de olika föredragen finns tillgängligt på institutionen Energetiska Material, FOI Grindsjön. I huvudsak behandlade konferensen komposterbara material och tonvikt lades på de regelverk som gäller för bionedbrytbara produkter.

## **5.3 Några av föredragen**

Det italienska företaget Novamont S.p.A. är ett företag som tycks dominera en stor del av marknaden. De saluför bl.a. produkten Mater-Bi<sup>TM</sup> som används inom områden som kompostering, förpackningar och jordbruk- och hygienprodukter. Mater-Bi<sup>TM</sup> består av stärkelsebaserade polymerblandningar. De flesta studier gjorda på nedbrytning av bio-nedbrytbara polymerer och blandningar är gjorda i kompost och det är därför svårt att veta hur materialet kommer att brytas ned ute i fält där temperaturen inte blir lika hög. Novamont saluför emellertid en Mater-Bi film som är speciellt framtagen för att brytas ned ute i fält, Mater-Agro.

Solanyl är en bio-nedbrybar produkt som saluförs av Rodenburg Biopolmers, Nederländerna och fås som biprodukt från potatis. Produkten levereras som granulat och är lämplig för formsprutning.

Cargill Dow LLC marknadsför en produkt baserad på polymjölksyra, Nature Works<sup>TM</sup> PLA. Den tillverkas genom fermentation av socker och används till filmer, skumfyllmedel, flaskor och kläder. För nedbrytning av Nature Works<sup>TM</sup> PLA rekommenderas kompostering eftersom hög temperatur och fukt krävs.

En speciell nischprodukt marknadsförs bl.a. av Proterra, Nederländerna. De gör bio-nedbrytbara liksäckar men även jordbruksfilm som alltså bryts ned ute på fält. Vilken polymer produkten baseras på framgår ej. En annan tillverkare av liksäckar och andra bio-nedbrytbara produkter som jordbruksfilmer och matförpackningar är Fardis från Belgien.