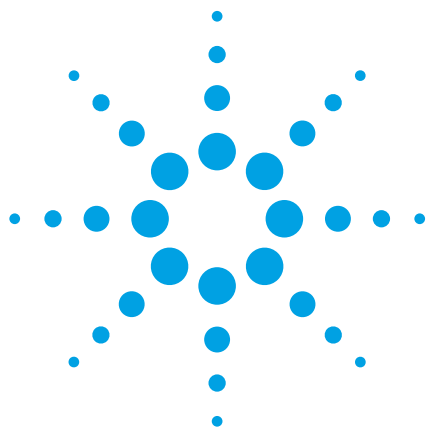




采用配备安捷伦 60 mm 最大光强卡套式流通池的 Agilent 1290 Infinity 液相色谱系统对土壤样品中的痕量炸药进行分析

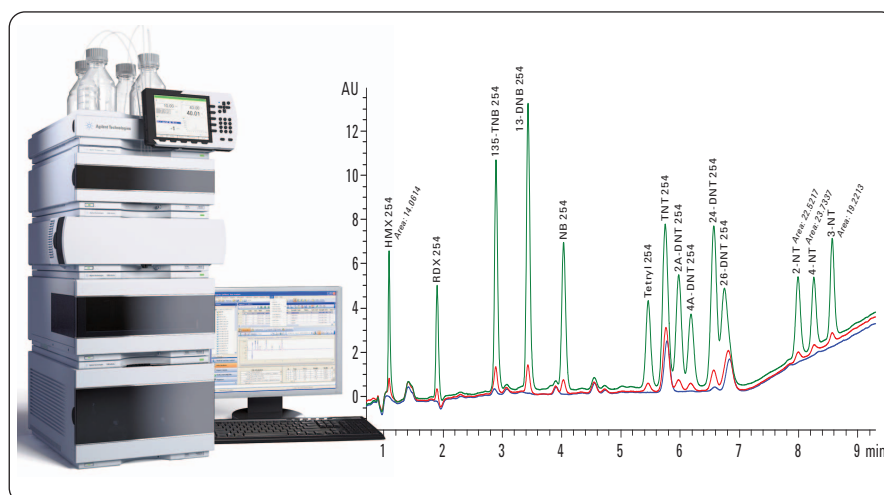
应用报告

环境

作者

Gerd Vanhoenacker, Frank David
Pat Sandra
Research Institute for Chromatography
Kennedypark 26, 8500 Kortrijk
Belgium

Edgar Naegele
Agilent Technologies
Waldbronn, Germany



摘要

本应用报告描述了如何使用配备安捷伦 60 mm 最大光强卡套式流通池二极管阵列检测器的 Agilent 1290 Infinity 液相色谱系统对土壤中硝基芳香类炸药残留进行分析。对于标准溶液，检测限低于 1 µg/L，并获得了优异的检测灵敏度。在 44 °C 时采用 Agilent Poroshell 120 EC-C18 色谱柱使结构相关化合物实现色谱分离。该研发方法经验证，适用于一系列土壤样品分析。



Agilent Technologies

前言

在地下水、沉积物和土壤中均可以发现炸药残留，这些炸药残留是由军事、恐怖活动，以及诸如采矿和建筑施工等民用活动带来的。三硝基甲苯 (TNT) 及其代谢产物，以及环三亚甲基三硝胺 (RDX) 是最常见的炸药^{1,2}。土壤中的细菌可以将 TNT 转化为有毒及致突变的 2-氨基-4,6-二硝基甲苯 (2A-DNT) 和 4-氨基-2,6-二硝基甲苯 (4A-DNT) 代谢产物。

美国环境保护局已经颁布了 EPA 方法 8330 用于进行硝基芳烃和硝基胺^{3,4}的分析。本文中的 14 种化合物的结构见表 1。环境样品中炸药的测定是一项具有挑战性的工作。一些炸药固有的有限热稳定性使它们不适于进行气相色谱分析。因此，液相色谱成为这些化合物分析的选择。由于某些炸药的检测灵敏度要求低至 1-10 ng/kg 或 ng/L，因此配备大气压化学电离源 (APCI) 的 LC/MS 适用于炸药的残留分析²。当然，对于某些化合物，由于其检测灵敏度要求不在标准规定范围之内，故仪器成本消耗可能会很高。

使用 UV 或 DAD 检测器，可在相对低浓度时检测炸药残留。与质量选择检测器相比，使用 UV 检测器的缺点之一就是缺乏选择性。因为有些化合物的结构极为相似，这使得它们很难得到有效的色谱分离。因此，EPA 方法 8330 推荐使用两种色谱柱。以 C18 固定相色谱柱为主进行炸药分析，进而采用 CN 固定相色谱柱进行成分鉴定。色谱柱串联使两种固定相可以在同一分析中联合发挥作用⁵。但是，样品基质变化显著，并在样品分析时产生干扰。不过，带有 UV 检测器 (EPA 8330) 的液相色谱仍为此分析的适用方法。

本文展示了采用配备灵敏检测器的先进设备进行所有炸药分析的优势，尤其是土壤

样品中炸药的分析。本分析采用 Agilent Poroshell 120 色谱柱。

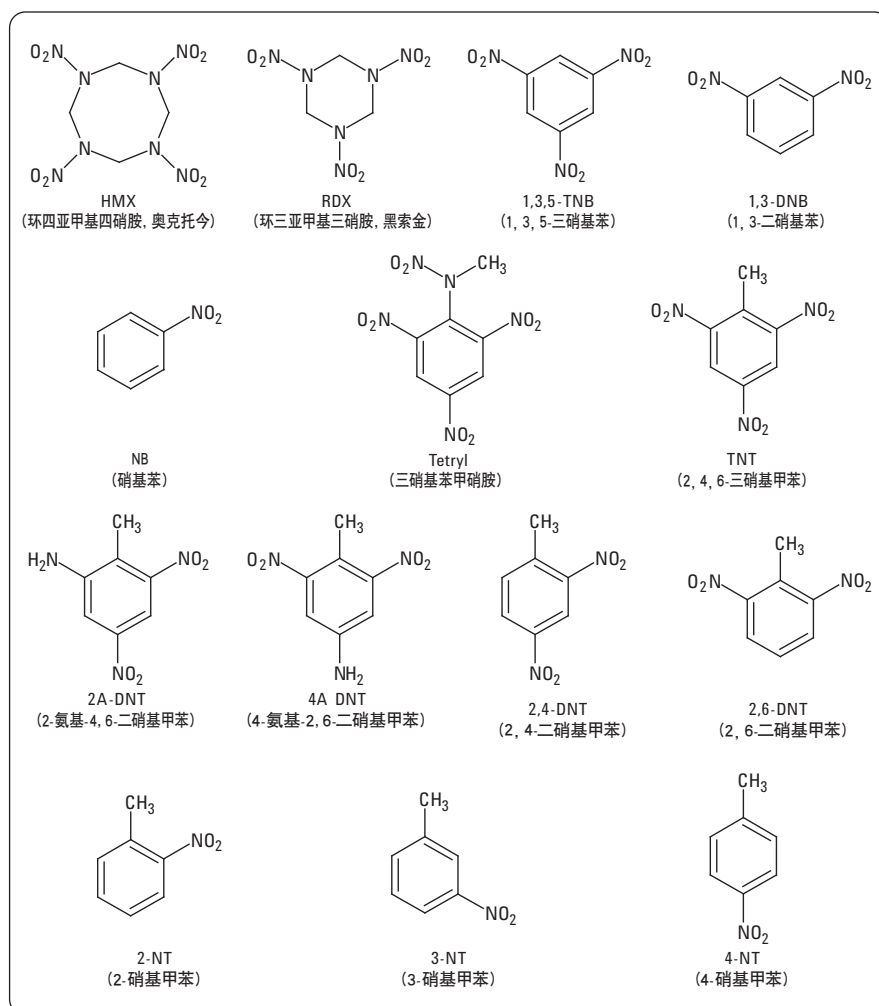


表 1
US EPA 方法 8330 中的分析化合物列表

实验部分

化学品与溶液

炸药标准品混合物购于 Dr. Ehrenstorfer 公司 (Augsburg, Germany)。将标准混合物配制成浓度为 100 ng/mL 的乙腈溶液 (表 2)。

所有稀释液和样品溶液都须配制成 0.1% 的甲酸溶液, 以防止三硝基苯甲硝胺降解。最终的进样溶剂为含 0.1% 甲酸的水/乙腈 (v/v=75/25) 混合液。

样品制备

干燥土壤样品的提取流程如下:

1. 称取 2 g 土壤样品置于 15 mL 离心管中。
2. 加标炸药 (选项)。
3. 在乙腈中加入 5 mL 0.1% 甲酸溶液。
4. 振摇 10 s。
5. 室温超声 15 min。
6. 冰箱中储存 2 h。
7. 室温超声 15 min。
8. 离心。
9. 取上清液 1 mL, 加 3 mL 0.1% 甲酸溶液稀释。
10. 混合, 用滤膜过滤。

硝基苯类-炸药混标 1 (08330100)	硝基苯类-炸药混标 2 (08330200)
1,3-DNB	2A-DNT
2,4-DNT	4A-DNT
RDX	2,6-DNT
NB	2-NT
HMX	3-NT
1,3,5-TNB	4-NT
TNT	Tetryl

表 2
样品溶液

色谱条件

方法参数:

色谱柱	Agilent Poroshell 120 EC-C18, 100 mm x 2.1 mm, 2.7 µm (部件号 695775-902)	
流动相	A=0.01% (v/v) 甲酸溶液 B=甲醇	
流速	0.55 mL/min	
梯度程序	0–2.5 min 20% 到 28% B 2.5–6.5 min 28% 到 30% B 6.5–11.5 min 30% 到 70% B 11.5–13 min 20% B	
柱温	44 °C	
进样量	20 µL, 洗针 (冲洗端口, 5 s, 水/甲醇=1/1)	
样品温度	15 °C	
二极管阵列检测器	Signal A: 254/8 nm (定量) Signal B: 234/8 nm (定性鉴定波长) 峰宽 > 0.025 min	

仪器

采用配备以下组件的 Agilent 1290 Infinity 液相色谱系统:

- 集成真空脱气机的 1290 Infinity 二元泵 (G4220A)
- 1290 Infinity 标准自动进样器 (G4226A)
- 1290 Infinity 恒温器 (G1330B)
- 1290 Infinity 柱温箱 (G1316C)
- 1290 Infinity 二极管阵列检测器 (G4212A)
- 最大光强卡套式高灵敏度流通池 (60 mm 光程) (G4212-60007)
- 最大光强卡套式标准流通池 (10 mm 光程) (G4212-60008)

结果与讨论

方法优化

由于这些化合物结构相似，所以能在让人接受的时间内分离 14 种化合物就会比较困难。因此，固定相和流动相选择就非常重要。最终的色谱方法以技术概述 5990-5552EN[6] 中的描述为基础，只是用梯度洗脱代替了原始的等度洗脱方法来分析土壤样品。应用浅梯度进行炸药的分离和洗脱，在运行结束时进行色谱柱冲洗。包括色谱柱再平衡时间在内的总分析时间为 13 min。

柱温控制是分离炸药 6-11[3,4,7] 的关键。44 °C 为最佳柱温，可实现预期的选择性。向流动相 A 中加入少量甲酸以确保三硝基苯甲硝胺的稳定性。加酸不影响目标化合物的保留，但是在梯度洗脱时影响基线形状。因此，最终选择低浓度的 0.01% (v/v) 甲酸溶液来获得相对平坦的基线。

由于采用乙腈提取土壤样品，因而不牺牲色谱效率和良好峰形的提取物大体积进样是不可能的。在给定的分析条件下，进样

体积应该保持在 2 μL 以下。当必须采用更大体积进样来提高检测灵敏度时，应用更弱的溶剂稀释乙腈样品液，如水。用 0.1% 甲酸水溶液释样品溶液至 3 倍体积时，可实现 20 μL 或更大进样量。与未经稀释样品和标准品溶液的进样量相比，进样 20 μL 稀释样品，上样量增加了 2.5 倍。样品溶剂和进样量影响的示例见图 1。

氮气吹干提取物，用更小体积的进样溶剂复溶残渣，以进一步浓缩样品。遗憾的是，一些挥发性较强的炸药（如硝基苯和硝基甲苯）会在此步操作中损失。

方法验证

采用 60 mm 流通池，溶液进样 20 μL 时的检测限大约为 0.5 ppb ($\mu\text{g/L}$)。这就意味

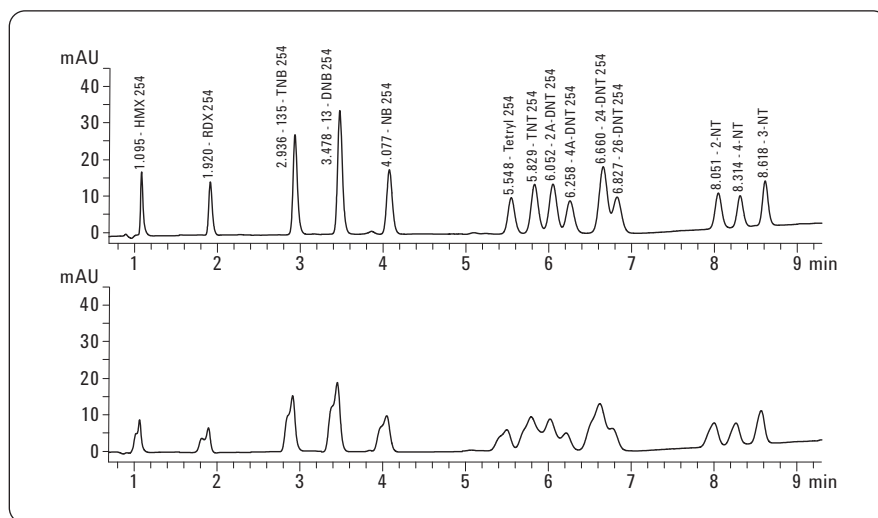


图 1

标准品的乙腈溶液（500 ng/mL，进样 5 μL ）-下方色谱图和含 0.1% 甲酸的水/乙腈标准品溶液（125 ng/mL，进样 20 μL ）-上部色谱图的对比色谱图。在两个分析中，每种炸药的上样量均为 2.5 ng

着分析土壤样品的 LOD 大约为 5 ppb (µg/kg)。高灵敏度最大光强卡套式流通池 (60 mm) 比标准流通池 (10 mm) 有更长的光程, 理论上, 检测灵敏度是后者的 6 倍。两种流通池的性能对比结果见表 3。进样 5 ppb 浓度的标准溶液, 信噪比提高约 4.5 倍, 而分离度保持不变。因此, 高灵敏度流通池的检测灵敏度将提高 5 倍。采用 10 mm 流通池进行 5 ppb 标准溶液分析和采用 60 mm 流通池进行 1 ppb 标准溶液分析的数据对比证实了这个结论, 见表 3。内置标准 10 mm 流通池, 在 1 ppb 浓度时几种测试化合物甚至检测不到。光程增加对 1 ppb 标准溶液信号强度的影响见图 2。

采用三个水平浓度的溶液考察方法的重复性。浓度为 1、10 和 100 ppb 的标准溶液连续进样 8 次, 计算其 RSD 值。单次进样浓度为 1、2.5、5、10、25、50、100、250 和 500 ppb 标准溶液, 绘制校准曲线。结果见表 4。

	10 mm, 5 ppb		60 mm, 5 ppb		60 mm, 1 ppb	
	信噪比	分离度	信噪比	分离度	信噪比	分离度
Tetryl	4.5		19.5		3.5	
TNT	5.2	1.74	23.4	1.81	4.0	1.65
2A-DNT	5.5	1.30	24.3	1.36	4.7	1.32
4A-DNT	3.8	1.17	16.5	1.16	3.2	1.05
24-DNT	7.0	2.15	32.3	2.16	5.7	2.05
26-DNT	4.3	0.77	20.1	0.84	7.0	0.85

表 3
10 mm 最大光强卡套式流通池和 60 mm 流通池的性能对比

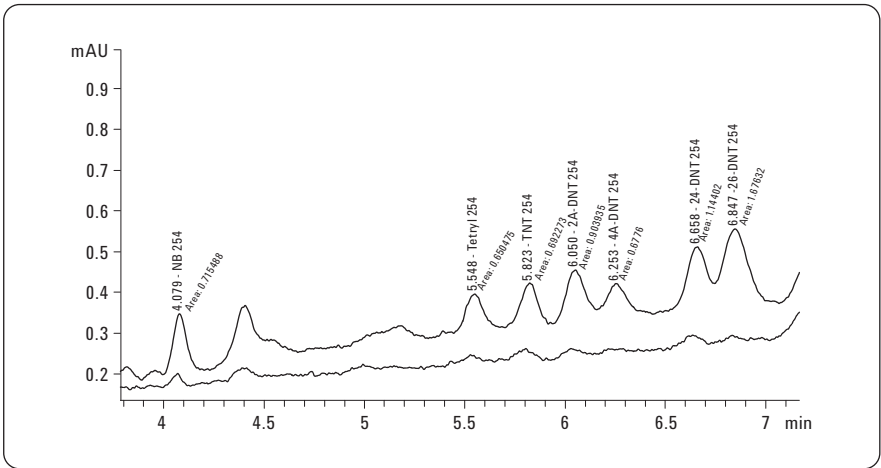


图 2
采用最大光强卡套式标准流通池 (10 mm 光程) -下方色谱图和采用最大光强卡套式高灵敏度流通池 (60 mm 光程) -上方色谱图对 1 ppb 标准溶液进行分析的详情

化合物	重复性 (n=8), %RSD				线性 (1-500 ppb) R ²
	保留时间 10 ppb	峰面积 1 ppb	峰面积 10 ppb	峰面积 100 ppb	
HMX	0.09	5.94	1.68	1.05	0.9994
RDX	0.11	5.96	1.91	0.88	0.9999
135-TNB	0.10	10.84	1.49	0.46	0.9995
13DNB	0.08	3.71	1.04	0.96	0.9995
NB	0.07	9.05	2.00	1.58	0.9996
Tetryl	0.09	10.85	1.63	1.64	0.9988
TNT	0.10	9.07	1.65	1.29	0.9992
2A-DNT	0.08	6.78	1.55	0.83	0.9994
4A-DNT	0.08	3.51	2.29	1.43	0.9992
24-DNT	0.08	6.78	1.84	1.17	0.9992
26-DNT	0.08	7.65	2.18	1.20	0.9996
2-NT	0.03	13.88	4.18	1.17	0.9997
4-NT	0.03	12.15	3.15	1.48	0.9998
3-NT	0.02	4.62	3.05	1.19	0.9995

表 4
方法性能

样品分析

对三种不同土壤样品加标浓度 50 和 500 ppb (μg/kg 土壤) 前后分别进行分析。在样品完成制备并经过分析后, 对比 5 和 50 ppb (ng/mL) 标准溶液的进样结果。减去未加标样品相应色谱峰后计算加标样品各的回收率, 数据见表 5。对于大多数样品来说回收率均在合理范围内(例如, 80-120%)。

但是, 有一些数值由于样品基质干扰, 例如加标浓度 50 μg/kg 的 TNT 和 2, 6-DNT 其回收率比预期值高许多。在已开发的方法中, 在 234 nm 采集 DAD 信号进行组分确证和校准。在两个波长下, 检测峰对应的各自炸药的计算浓度应该非常相似。但在本研究中, 这些土壤样品中的检测峰表现的不是这种情况。因此得出结论, 这些峰受到了其它物质的干扰。

这也证实了对于极低浓度的炸药而言, 与质量选择检测器相比, 以 UV 为基础的检测器缺乏选择性。但是, 样品预期浓度在 100 μg/kg 左右时, DAD 仍为首选检测器。图 3 为未加标和加标土壤样品分析的实例。

化合物	加标 50 μg/kg			加标 500 μg/kg		
	土壤 1	土壤 2	土壤 3	土壤 1	土壤 2	土壤 3
HMX	80.7	72.0	69.2	91.9	95.3	90.3
RDX	106.8	95.0	94.2	90.0	89.6	89.6
135-TNB	79.5	100.2	104.5	93.3	99.2	100.5
13DNB	129.6	139.0	152.6	96.9	100.4	100.9
NB	104.8	110.7	107.0	104.3	111.2	108.3
Tetryl	95.1	95.4	94.7	92.7	94.2	96.6
TNT	137.5	248.9	191.1	100.6	97.6	93.1
2A-DNT	101.7	96.6	97.9	93.2	95.0	96.9
4A-DNT	102.4	91.5	96.5	90.5	93.1	95.3
24-DNT	121.0	89.9	88.8	98.3	96.7	97.9
26-DNT	157.7	230.5	202.0	99.3	93.8	93.6
2-NT	83.0	91.2	107.8	108.3	118.0	105.0
4-NT	115.7	103.2	97.2	108.8	104.9	99.1
3-NT	98.5	106.7	87.2	105.0	108.1	99.7

表 5
加标炸药土壤样品的回收率 (以百分比数值表示回收率)

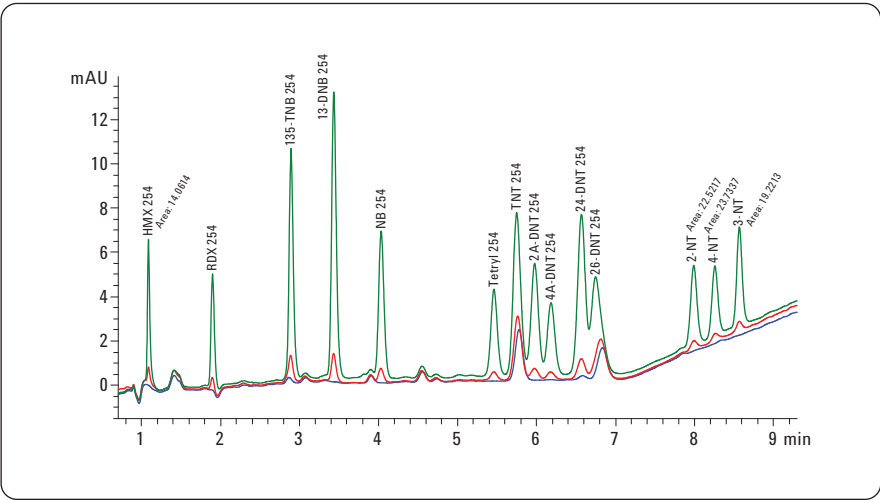


图 3
土壤样品和加标土壤样品 (加标 50 和 500 μg/kg) 的叠加色谱图

结论

本文开发的方法可实现 ng/mL 级以下的 US EPA 8330 炸药标准溶液的测定。应用本方法分析土壤样品，相应的检测限大约为 5 ppb ($\mu\text{g/kg}$)。因为配备最大光强卡套式高灵敏度流通池，新型 Agilent 1290 Infinity DAD 具有高检测灵敏度，所以可以实现低浓度检测。标准溶液测定的重复性、线性及加标土壤样品的回收率结果表明了此方法适用于常规土壤炸药残留分析。此外，采用 Agilent Poroshell 120 EC-C18 色谱柱可以在相对短的分析时间内将这些结构相似化合物进行分离，说明它可以在分析中提供必要的选择性。

参考文献

1. R. Schuster, A. Gratzfeld-Huesgen, "HPLC Analysis of Explosive Constituents in Soil Samples," Agilent Technologies, publication, 5091-7626E, **1993**.
2. R. Kinghorn, C. Milner, "爆炸残留物的飞行时间 LC/MS 分析" Agilent Technologies publication 5989-2449CHCN, March **2005**.
3. U.S. Environmental Protection Agency, "EPA Method 8330, Nitroaromatics and Nitramines by High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Revision 0," September **1994**.
4. U.S. Environmental Protection Agency, "EPA Method 8330A, Nitroaromatics and Nitramines by High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Revision 1," February **2007**.
5. M.J. Lang, "HPLC Analysis of Explosives using EPA Method 8330," Varian, LC Application Note nr. 24.
6. "Isolation, Purification and Chromatography of Nitro Compounds and Explosives," Agilent Technologies publication 5990-5552EN, April **2010**.
7. J.W. Henderson Jr., W.J. Long, "Separation of Explosives in EPA 8330: Column Choices Optimize Speed, Resolution, and Solvent Use," Agilent Technologies publication 5989-7632EN, November **2007**.

www.agilent.com/chem/1200

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2011
2011 年 12 月 1 日
出版号 5990-6871CHCN



Agilent Technologies