

硝基化合物的高效液相色谱(HPLC)分析*

刘秀华** 朱方华 何小波 孟丹 胥全敏

(中国工程物理研究院, 绵阳, 621900)

摘要 硝基化合物是炸药废水的主要成分,大部分硝基化合物具有较高的毒性. 本文对奥克托今、黑索今、1,3,5-三硝基苯、1,3-二硝基苯、硝基苯、2,4,6-三硝基甲苯、2-氨基-4,6-二硝基甲苯、2,4-二硝基甲苯共8种硝基化合物的紫外光谱和液相色谱分离条件进行了研究,其最佳检测波长分别为228 nm、227 nm、227 nm、237 nm、272 nm、230 nm、226 nm、244 nm. 本文建立了8种硝基化合物的高效液相色谱测定方法,色谱条件为:色谱柱为ZORBAX SB-C18(3.0 mm × 250 mm, 5 μm),检测器为紫外检测器,流动相为甲醇-水(50:50),流速为0.5 mL·min⁻¹. 水中8种硝基化合物可以在13 min内得到较好的分离,检出限均≤0.8 ng,回收率大于95%.

关键词 硝基化合物, 紫外光谱, 液相色谱分析, 炸药.

废水中的梯恩梯(TNT, 三硝基甲苯)、黑索今(RDX、1,3,5-三硝基-1,3,5-三氮杂环己烷, 又称环三亚甲基三硝胺)、二硝基甲苯(DNT)和奥克托今(HMX、1,3,5,7-四硝基-1,3,5,7-四氮杂环辛烷, 又称环四亚甲基四硝胺)等硝基化合物主要来源于炸药及其制造所用原料及中间产物^[1], 它们大多是高毒性物质, 且化学性质稳定, 很难为一般微生物所降解, 可以经皮肤或呼吸道吸入后进入人体, 引起中毒或致死. 比如 TNT 会损害眼的晶状体导致中毒性白内障、伤害消化系统及肝功能、血液系统和生殖系统, 导致胃炎、肝炎、再障、贫血等慢性中毒症状. 黑索今会影响人类中枢神经系统, 引起狂躁、肌肉痉挛、头晕目眩、呕吐、甚至死亡, 还显示出对肾、胃肠的毒性. 炸药废水中硝基化合物排放到河流中会毒死鱼虾、也会造成土壤污染, 进而毒害树木和农田作物等^[2-3]. 因此, 准确测定和控制废水中 TNT、RDX、DNT 等炸药残余物在废水中的含量对保护水生生态系统和保证人类的健康具有重要意义.

现有的关于废水中硝基化合物分析的国家标准方法有气相色谱法(GB 13904—92)和分光光度法(GB 13905—92、GB 13903—92、GB/T 13900—92等), 气相色谱法只是针对 TNT、RDX、DNT 3种炸药进行测定, 且方法是采用苯试剂液液萃取两次, 操作步骤繁杂、溶剂有毒且耗用量大, 而且耗时较长. 分光光度法都只是针对水中一种炸药成分的测定, 而且试样要进行蒸馏, 操作繁琐, 不能实现多组分的同时测定^[4]. 高效液相色谱法(HPLC)能同时检测多种炸药组分, 并可以实现较低的检测限和较宽的线性范围, 而且所需样品量少, 进样一般只需要几微升到几十微升. 另外, 反相液相色谱柱在优化的色谱条件下对两者有较好的选择性和分离效果, 可直接进样测定, 无需有机溶剂萃取, 没有二次污染^[5-6].

目前利用液相色谱测定硝基化合物的相关报道要么是有机溶剂中硝基化合物的测定^[7-8], 要么是单独某一种硝基化合物的测定^[9-10]. 对水中多种硝基化合物的分析较少, 对大部分硝基化合物没有进行光谱分析, 本文利用 HPLC-PDA 对 8 种硝基化合物进行了光谱分析, 并获得了理想的液相色谱分析条件.

1 实验部分

1.1 主要试剂

奥克托今、黑索今、1,3,5-三硝基苯、1,3-二硝基苯、硝基苯、2,4,6-三硝基甲苯、2-氨基-4,6-二硝基甲苯、2,4-二硝基甲苯混合标准溶液(美国 Supelco 公司, 浓度分别为 98.4 mg·L⁻¹、97.9 mg·L⁻¹、

2011年3月28日收稿.

* 中国工程物理研究环保基金(617)资助.

** 通讯联系人, E-mail: liuxiuhua@julia@yahoo.com.cn

97.1 mg·L⁻¹、98.3 mg·L⁻¹、96.7 mg·L⁻¹、99.3 mg·L⁻¹、98.2 mg·L⁻¹、98.6 mg·L⁻¹),使用时由超纯水稀释;甲醇(液相色谱级);超纯水.

1.2 主要仪器

硝基化合物的分离条件研究采用美国 HP1050 高效液相色谱仪,配紫外检测器,色谱柱:ZORBAX SB-C18,3.0 mm×250 mm,5 μm;流量:0.5 mL·min⁻¹;流动相:甲醇与水的混合物;进样量 20 μL. 全波长扫描采用美国 Finnigan LCQ Advantage 液相色谱仪,配二极管阵列检测器(PDA);色谱柱:Hypersil ODS C18, 2.1 mm×150 mm,5 μm,流量:0.2 mL·min⁻¹;流动相:甲醇/水=50%/50%;进样量 10 μL.

2 结果与讨论

2.1 检测波长的选择

进行液相色谱测定时,检测波长的选择要根据仪器的性能和化合物的最大吸收波长来确定. 利用 HPLC 对 2 mg·L⁻¹混合标准溶液进行分离测定,在 8 种硝基化合物的各色谱峰分离度较好的情况下,利用二极管阵列检测器(PDA)对 8 种硝基化合物进行了全波长扫描,采集到的紫外吸收光谱见图 1. 得到各化合物的最大吸收波长,见表 1. 化合物光谱测定是在水和甲醇混合溶剂中测定,水和甲醇的透明界限分别为 190 nm 和 205 nm,所以在 205 nm 以上的吸收波长不需溶剂校正^[11]. 奥克托今、黑索今、1,3,5-三硝基苯、1,3-二硝基苯、硝基苯、2,4,6-三硝基甲苯、2-氨基-4,6-二硝基甲苯、2,4-二硝基甲苯的最大吸收波长分别为 228 nm、227 nm、227 nm、237 nm、272 nm、230 nm、226 nm、244 nm. 对于多波长检测器,可以针对不同成分的响应情况同时设定多个波长进行检测,如硝基苯的设为 272 nm,1,3-二硝基苯设为 237 nm,2,4-二硝基甲苯设为 244 nm,其它的设为(227±1) nm. 对于单波长检测器,可以设定为大多数化合物吸收较强的位置,如 230 nm.

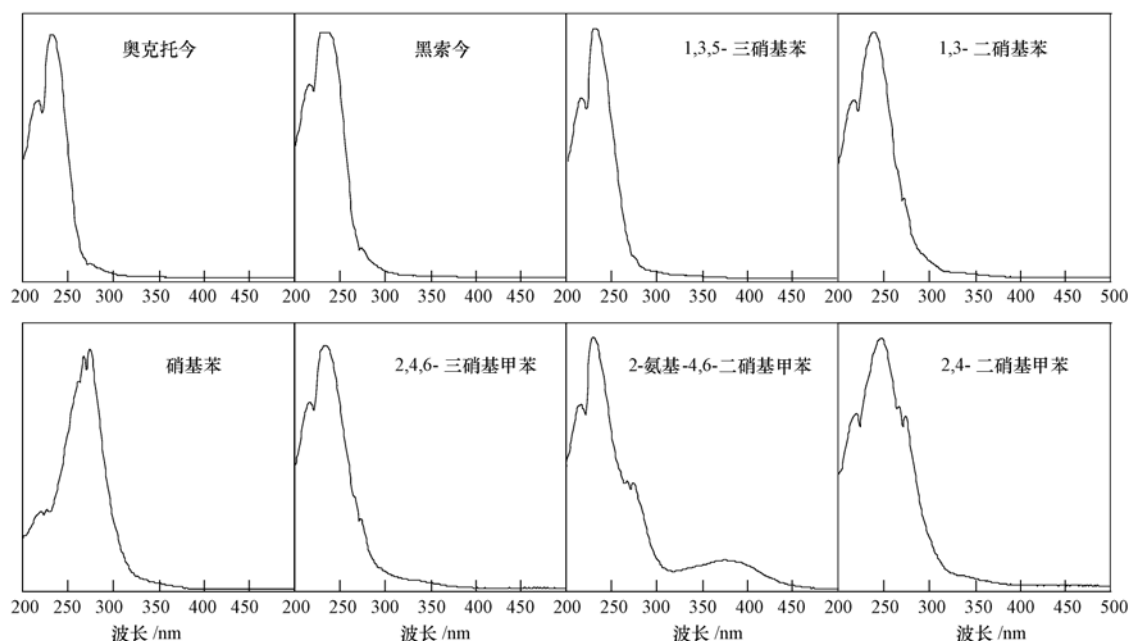


图 1 硝基苯类化合物的紫外可见光谱图

Fig.1 UV-Vis absorption spectra of the eight nitrobenzene compounds

表 1 硝基化合物的最大吸收波长

Table 1 The maximum absorption wavelength of nitro compounds

化合物	奥克托金	黑索今	1,3,5-三硝基苯	1,3-二硝基苯	硝基苯	梯恩梯	2-氨基-4,6-二硝基甲苯	2,4-二硝基甲苯
波长/nm	228	227	227	237	272	230	226	244

2.2 流动相的选择

实验研究表明,淋洗液成分和流速的变化会引起基线较大的波动,而且色谱峰的对称性很差. 所以后面实验的流动相均采用恒定的配比. 图 2 是不同配比的淋洗液成分下约 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 硝基化合物的混合标准溶液在 230 nm 下测定的色谱图,在甲醇/水 = 70/30 和甲醇/水 = 60/40 时,硝基苯类化合物的出峰较快,但是分离度较差. 而在甲醇/水 = 48/52 和甲醇/水 = 40/60 时,硝基苯类化合物的出峰较慢,大部分峰的分度变好,但是最晚出峰的 2-氨基-4,6-二硝基甲苯和 2,4-二硝基甲苯的色谱峰重叠在一起,没有分离开,而且出峰的时间拉长,在甲醇/水 = 40/60 时需要 0.5 h 以上. 甲醇/水 = 50/50 的条件下最好,样品分离度好且出峰时间短.

流动相的最佳流速与色谱柱的长短、固定相的粒径和仪器的状态等因素有关,流速较快则化合物的峰面积变小,分离度变差,容易出现肩峰,流速较慢则运行时间大大增长,本实验条件下,采用甲醇/水为 50/50、流速为 $0.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 可以使各硝基化合物得到较好的分离,见图 2(c). 该方法采用的是反相液相色谱技术,极性大的组分先出峰,出峰顺序依次为奥克托今、黑索今、1,3,5-三硝基苯、1,3-二硝基苯、硝基苯、梯恩梯、2-氨基-4,6-二硝基甲苯、2,4-二硝基甲苯.

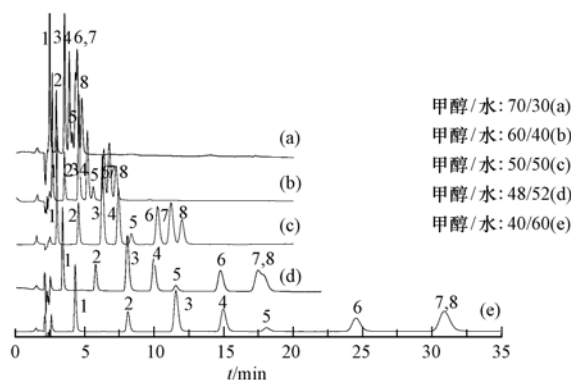


图 2 不同流动相成分下硝基化合物的色谱图

Fig. 2 Chromatograms of the nitro compounds in different mobile phases

(1)奥克托金;(2)黑索今;(3)1,3,5-三硝基苯;(4)1,3-二硝基苯;(5)硝基苯;
(6)梯恩梯;(7)2-氨基-4,6-二硝基甲苯;(8)2,4-二硝基甲苯

2.3 校正曲线的绘制

分别配制不同浓度的混合标准系列溶液,各化合物的浓度因初始浓度的不同而略有差异. 在上述的优化条件(甲醇/水 = 50/50,流速 = $0.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$)下进行测定,以进样量(ng)为横坐标,以峰面积(硝基苯在 272 nm 下检测,其它化合物在 230 nm 下检测)为纵坐标进行作图,得到各化合物的校准曲线. 进样量在 $2\text{—}70 \text{ ng}$ 之间时,各化合物校准曲线的相关系数均在 0.999 以上,见图 3 和表 2.

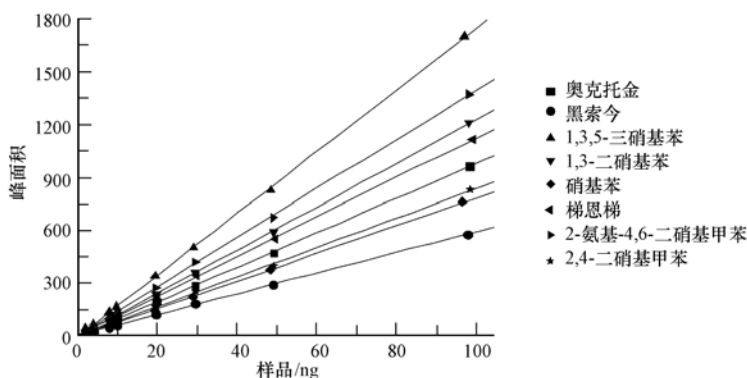


图 3 硝基化合物的校准曲线

Fig. 3 Calibration curves of the nitro compounds

进样量在 $2\text{—}100 \text{ ng}$ 之间时,HMX 校准曲线的相关系数在 0.999 以上,其它化合物校准曲线的相关

系数有所下降,但是均大于 0.997. 高效液相色谱法以噪声的 3 倍所相当的浓度或量为检出限^[12], 计算得到各化合物的检出限均 ≤ 0.8 ng.

表 2 硝基化合物的线性拟合结果
Table 2 Linear fitting results of the nitro compounds

化合物	CAS#	方程	R	检出限/ng
奥克托金	2691-41-0	$Y = 9.76331X - 1.55422$	1.0000	0.78
黑索今	121-82-4	$Y = 5.8647X + 4.3857$	0.9999	0.48
1,3,5-三硝基苯	99-35-4	$Y = 17.43649X - 2.44219$	0.9999	0.55
1,3-二硝基苯	99-65-0	$Y = 12.24432X - 2.29041$	0.9999	0.66
硝基苯	98-95-3	$Y = 7.8786X - 3.2756$	0.9998	0.68
梯恩梯	118-96-7	$Y = 11.19022X + 2.33695$	0.9999	0.47
2-氨基-4,6-二硝基甲苯	35572-78-2	$Y = 13.88878X + 2.1946$	0.9998	0.41
2,4-二硝基甲苯	121-14-2	$Y = 8.35034X - 0.01126$	0.9996	0.65

2.4 实际废水的测定

利用该方法对某炸药废水进行了测定,见图 4. 计算表明,废水中含有奥克托今、黑索今和梯恩梯, 含量分别为 $1.58\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $43.77\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $1.23\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. 向 50 mL 水样中加入 2 mL 的 $49.20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $48.95\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $49.65\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的奥克托今、黑索今和梯恩梯标准溶液,回收率分别为 98.9%、95.35%、99.6%,满足测试要求.

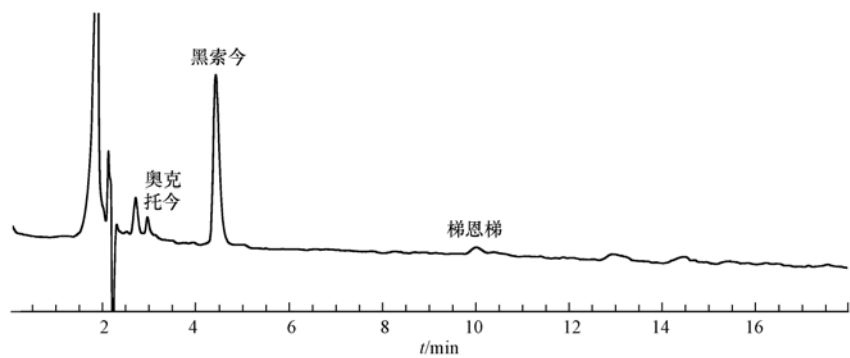


图 4 某炸药废水的色谱图

Fig. 4 Chromatogram of an explosive wastewater sample

3 结论

对奥克托今、黑索今、1,3,5-三硝基苯、1,3-二硝基苯、硝基苯、2,4,6-三硝基甲苯、2-氨基-4,6-二硝基甲苯、2,4-二硝基甲苯 8 种硝基化合物的液相色谱分析条件进行了优化研究. 利用二极管阵列检测器 (PDA) 对上述化合物进行全波长扫描, 获得了其最佳检测波长分别为 228 nm、227 nm、227 nm、237 nm、272 nm、230 nm、226 nm、244 nm. 研究还表明, 流动相成分和流速的变化会引起基线较大的波动, 流动相中甲醇含量大时硝基化合物色谱峰的分离度较差, 水含量大时, 运行时间过长. 流速较快则化合物的峰面积变小, 分离度变差, 容易出现肩峰, 流速较慢则运行时间大大增长, 在甲醇/水 = 50/50, 流速 = $0.5\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 水中 8 种硝基化合物可以在 13 min 内全部出峰并且得到有效分离.

参 考 文 献

[1] Sublette K L, Ganapatby E V, Schwartz S. Degradation of munition wastes by phanerochaete chrysosporium[J]. Appl Biochem Biotech, 1992, 34/35:709-723

[2] Jeffery A, Steevens B, Maurice Duke, et al. Toxicity of the explosives 2,4,6-trinitrotoluene, hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine, and octahydro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazocine in sediments to *Chironomus tentans* and *Hyalella azteca*: Low-dose hormesis and high-

- dose mortality[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2002, 21(7):1475-1482
- [3] Won W D, Disalvo L H, Ng J, Toxicity and mutagenicity of 2,4,6-trinitrotoluene and its microbial metabolites[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1976, 31(4):576-580
- [4] 国家环境保护总局《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水监测分析方法(第四版增补版)[J]. 北京:中国环境科学出版社, 2010
- [5] Birgitta Persson, Henric Östmark, Helena Bergman. An HPLC method for analysis of HNIW and TNAZ in an explosive mixture[J]. *Propellants, Explosives, Pyrotechnics*, 1997, 22(4):238-239
- [6] Tobias Bausinger, Johannes Preuss. Stability of nitroaromatic specialty explosives in reversed-phase liquid chromatographic systems[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 162(2/3):1578-1582
- [7] 梁奕昌, 义志忠, 蔡志虹, 等. 硝基甲苯与硝基苯甲酸异构体的高效液相色谱法分析[J]. *色谱*, 1999, 17(4):397-398
- [8] 刘永刚, 陈曙东, 罗顺火. 多组分炸药混合物中 CL-20 的高效液相色谱测定[J]. *化学研究与应用*, 2000, 12(4):446-448
- [9] 宁艳利, 王亚鑫, 葛彦平, 等. 改性双基推进剂中 HMX 含量的高效液相色谱测定[J]. *含能材料*, 2005, 13(4):252-254
- [10] 张艳林, 高翠莲, 杨业全, 等. 固相萃取-高效液相色谱法检测水中硝基苯[J]. *贵州农业科学*, 2009, 37(7):238-239
- [11] 宁永成. 有机化合物结构鉴定与有机波谱学(第二版)[M]. 北京:科学出版社, 2000
- [12] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会发布, GB T5009.1—2003《食品卫生检验方法 理化部分 总则》附录 A[S]

Studies on the HPLC analysis conditions of nitryl compounds

LIU Xiuhua* ZHU Fanghua HE Xiaobo MENG Dan XU Quanmin

(China Academy of Engineering Physics, Mianyang, 621900, China)

ABSTRACT

Nitro compounds are the main components of explosive wastewater. Most nitro compounds are poisonous. This paper studied the ultraviolet spectra and HPLC separation conditions of eight nitro compounds, including HMX, RDX, 1,3,5-trinitrobenzene, 1,3-dinitrobenzene, Nitrobenzene, TNT, 2-Amino-4,6-dinitrotoluene and 2,4-dinitrotoluene. Their optimal determination wavelengths are 228 nm, 227 nm, 227 nm, 237 nm, 272 nm, 230 nm, 226 nm, 244 nm respectively. The HPLC method is employed with ZORBAX SB-C18 column (3.0 mm × 250 mm, 5 μm) and a UV detector. The mobile phase was methanol mingled with water ($V_{\text{methanol}}:V_{\text{water}}=50:50$) at a flow rate of 0.5 mL·min⁻¹. The eight nitro compounds can be separated well in 13 min, the detection limits are less than 0.8 ng and the recoveries are more than 95%.

Keywords: nitro compounds, ultraviolet spectrum, HPLC Analysis, explosives.