

## 药用复合硬片中甲苯二异氰酸酯单体残留检测

兰婉玲<sup>1</sup>, 蒲小聪<sup>1,2</sup>, 游延军<sup>1</sup>, 任锟<sup>1</sup>, 冯霞兰<sup>1</sup>, 成婕<sup>1</sup>

(1.四川省食品药品检验检测院, 成都 611731; 2.四川大学, 成都 610064)

**摘要:** **目的** 检测药品包装材料使用的粘合剂中甲苯二异氰酸酯(2, 4-TDI)单体的残留量。**方法** 用乙腈提取样品后, 与衍生剂 1, 2-吡啶哌嗪溶液进行衍生化反应, 然后采用反相高效液相色谱法测定衍生物, 从而计算 2, 4-TDI 单体残留量, 并进行方法学考察。**结果** 衍生物的线性范围为 0~1.2 μg/mL (线性相关系数  $R=0.9998$ , 线性拟合点数  $n=7$ ); 精密度的相对标准偏差为 1.52%; 24 h 内稳定性的相对标准偏差为 2.51%; 回收率平均值为 102.63%, 回收率的相对标准偏差为 1.79%。**结论** 建立的方法可靠、结果准确、稳定性好、专属性强, 能够快速测定衍生物的含量, 从而计算 2, 4-TDI 单体的残留量, 为药品包装材料所使用的粘合剂中 2, 4-TDI 单体残留量的检测提供有力支持。

**关键词:** 甲苯二异氰酸酯单体; 1, 2-吡啶哌嗪; 高效液相色谱法; 药品包装材料; 粘合剂

**中图分类号:** TB484.9; O657.7<sup>+2</sup> **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3563(2018)01-0053-05

### 2, 4-TDI Monomer Residue Detection of Drug Composite Sheet

LAN Wan-ling<sup>1</sup>, PU Xiao-cong<sup>1,2</sup>, YOU Yan-jun<sup>1</sup>, REN Kun<sup>1</sup>, FENG Xia-lan<sup>1</sup>, CHENG Jie<sup>1</sup>

(1.Sichuan Institute for Food and Drug Control, Chengdu 611731, China; 2.Sichuan University, Chengdu 610064, China)

**ABSTRACT:** The work aims to test the 2, 4-TDI monomer residue of the adhesive used in the drug packaging materials. The sample was extracted with acetonitrile and derivatized with 1, 2-pyridyl piperazine. Then, the derived product was tested with RP-HPLC, thus calculating the 2, 4-TDI monomer residue and investigating the methodology. The linear range of derivative was 0~1.2 μg/mL (linearly dependent coefficient  $R=0.9998$ , and number of linear fitting points  $n=7$ ). The relative standard deviation (RSD) of precision was 1.52%. RSD of stability in 24 h was 2.51%. The mean recovery was 102.63% and the RSD of recovery was 1.79%. The method established is reliable, accurate, stable and specific, and can be used to test the content of derived product rapidly, thus calculating 2, 4-TDI monomer residue, and providing powerful support for the test of 2, 4-TDI monomer residue in the adhesive used by the drug packaging materials.

**KEY WORDS:** 2, 4-TDI monomer; 1, 2-pyridine-piperazine; high performance liquid chromatography (HPLC); drug packaging material; adhesive

复合药品包装材料在加工合成中常使用含甲苯二异氰酸酯(2, 4-TDI)的粘合剂, 2, 4-TDI 挥发性大, 可通过呼吸道、皮肤进入人体, 会明显刺激呼吸道, 有致敏作用, 长期的低浓度接触可影响呼吸系统, 有动物实验也证实 2, 4-TDI 有致癌性。国际癌症研究机构认定 2, 4-TDI 为可能的人类致癌物<sup>[1]</sup>, 欧盟也把 2, 4-TDI 归类为可疑的人类致癌物<sup>[2]</sup>, 美国国家毒理学规划处也把 2, 4-TDI 归类为可以合理预期的人类致癌物<sup>[3-4]</sup>。由此, 对药品包装材料中的 2, 4-TDI 残

留量检测就显得尤为重要<sup>[5-8]</sup>。

国内长期以来一直沿用分光光度法对 2, 4-TDI 进行监测, 该法检测灵敏度较低, 操作较麻烦<sup>[9-15]</sup>。文中研究高效液相色谱测定 2, 4-TDI 的分析方法, 利用其中活泼的  $-N=C=O$  官能团, 与衍生剂 1, 2-吡啶哌嗪衍生反应生成稳定的双脒结构, 衍生物具有较强的紫外吸收性, 从而利用高效液相色谱进行检测。该法灵敏度较高, 操作简便, 可为药品包装材料所使用的粘合剂中 2, 4-TDI 残留量的检测提供有力支持。

收稿日期: 2017-06-06

作者简介: 兰婉玲(1972—), 女, 副主任药师, 主要研究方向为药品包装材料的检测。

## 1 实验

### 1.1 试剂与仪器

主要试剂：三乙胺，批号为 20121017，分析纯，天津市科密欧化学试剂有限公司；冰乙酸，批号为 20140430，分析纯，永华化学科技（江苏）有限公司；粘合剂主剂，批号为 131121614，规格为 258A，粘合剂固化剂，批号为 131121614，规格为 258B，四川远见实业有限公司；聚酯（PET）/低密度聚乙烯（LDPE）口服液液体药用复合硬片，批号为 2014010541，2014010641，2014010741，低密度聚乙烯（LDPE）膜材，批号为 20131104，四川汇利实业有限公司；聚酯（PET）硬片，批号为 20131018，四川省宜宾普什集团 3D 有限公司；2,4-TDI，批号为 Lot 50808，质量分数为 99.1%，Dr.Ehrenstorfer 公司；1,2-吡啶哌嗪（以下称衍生剂），批号为 AUY3N-JC，质量分数 >98.0%，东京化成工业株式会社；乙腈，批号为 155804，色谱纯，赛默飞世尔科技（中国）有限公司。主要仪器：高效液相色谱仪，Waters2695-2489/2998，LC-20A（二极管阵列检测器），岛津；pH 计，METTLER TOLEDO 公司；Arium pro 超纯水仪，德国赛多利斯公司。

### 1.2 色谱条件与专属性试验

色谱柱选择 Waters XTerra® C18 柱（色谱柱长度为 250 mm、内径为 4.6 mm，色谱柱填料颗粒直径为 5  $\mu\text{m}$ ），以十八烷基硅烷键合硅胶为填料；流动相为乙腈-质量分数为 0.3% 的冰乙酸水溶液，用三乙胺调节 pH 值至 4.5，乙腈与水相体积比为 53:47，流速为 0.7 mL/min；柱温为 35  $^{\circ}\text{C}$ ；测定波长为 310 nm；进样量为 10  $\mu\text{L}$ 。空白溶剂无干扰，系统适应性符合中国药典的规定，理论塔板数大于 1000。取粘合剂主剂、粘合剂固化剂、按粘合剂工艺配方配制的主剂和固化剂质量比为 6:1 的混合物按测定方法衍生后进行试验。主剂和固化剂质量比为 6:1 的混合物衍生后色谱见图 1，2,4-TDI 对照品衍生后色谱见图 2。

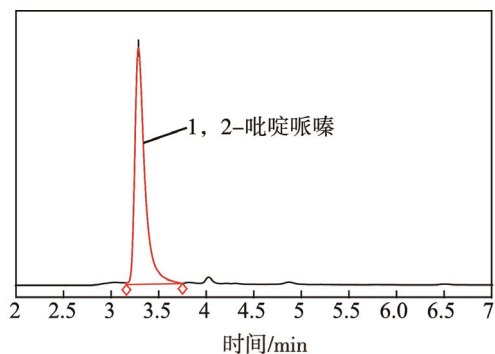


图 1 混合物衍生后色谱

Fig.1 The compound chromatogram after derivatization

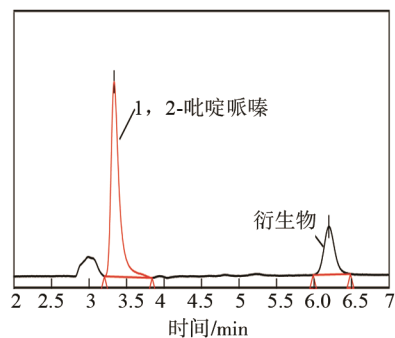


图 2 2,4-TDI 对照品衍生后色谱

Fig.2 The reference substance chromatogram of 2,4-TDI after derivatization

### 1.3 供试品溶液的制备

#### 1.3.1 对照品溶液

取 2,4-TDI 单体对照品适量，精密称定，置于 10 mL 量瓶中，立即加乙腈溶解并稀释至刻度，即得质量浓度为 1104  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 2,4-TDI 对照品储备液。

#### 1.3.2 衍生剂溶液

取衍生剂对照品适量，精密称定，置 50 mL 量瓶中，加乙腈稀释至刻度，制得质量浓度为 1024  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的衍生剂储备液。取上述储备液 10 mL，置于 100 mL 量瓶中，制得质量浓度为 102.4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的衍生剂溶液。

#### 1.3.3 样品溶液

取供试样品，将其剪裁为 0.5 cm $\times$ 0.5 cm 的细小颗粒，精密称取 12.5 g 至具塞瓶中，精密加入质量浓度为 102.4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的衍生剂溶液 5 mL，加入 40 mL 乙腈，立即密塞。静置，于室温下放置 12 h，超声 20 min，静置，待冷却至室温后，用滤纸过滤，合并滤液并用乙腈定容至 50 mL，精密量取滤液 20 mL 置另一 50 mL 量瓶中，用乙腈定容至刻度，作为样品溶液。

#### 1.3.4 衍生试验

由于衍生剂与 2,4-TDI 的相对分子质量差不多，且 2,4-TDI 有 2 个  $-\text{N}=\text{C}=\text{O}$  基团参与衍生反应，反应完全时生成双脲产物，反应不完全时生成单脲产物，故理论上反应完全所需衍生剂与 2,4-TDI 质量浓度比为 2:1。将衍生剂过量，分别配制衍生剂与 2,4-TDI 质量浓度比为 3:1, 5:1, 7:1, 9:1, 12:1 的溶液，分别在反应 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 min 后进样。当衍生剂与 2,4-TDI 质量浓度比为 3:1，反应时间为 20 min 时，反应不完全，产物为单脲与双脲的混合物。在该质量浓度比时，当反应时间达到 80 min，反应完全，产物完全为双脲。当衍生剂与 2,4-TDI 质量浓度比为 5:1，反应时间为 20 min 时，反应完全，产物完全为双脲，见图 3。以下试验均建立在衍生时间为 20 min，衍生剂与 2,4-TDI 质量浓度比远远大于 5:1，即在衍生剂过量的基础上进行的。

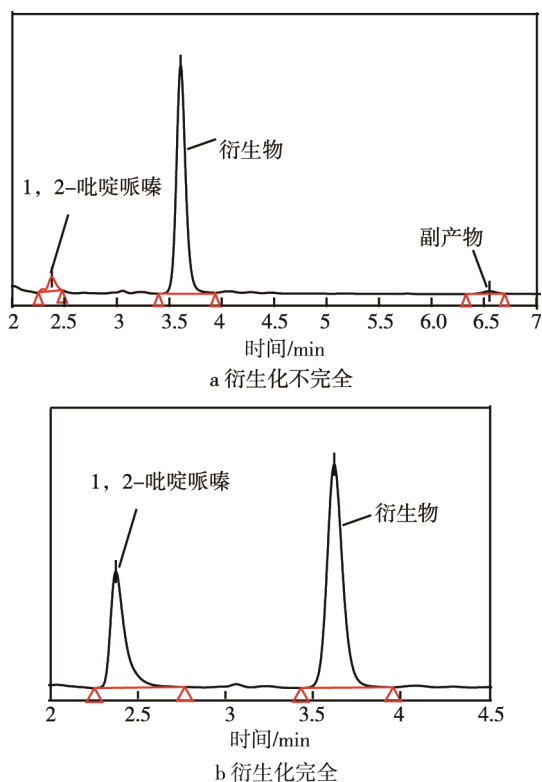


图 3 衍生试验图谱

Fig.3 The derivatization test graphs

### 1.3.5 溶剂筛选试验

取配制粘合剂用的主剂、固化剂以及质量比为 6:1 的按工艺配方配制的主剂和固化剂混合物, 分别加入过量乙腈、正己烷、甲苯、二氯甲烷、丙酮、乙酸乙酯等溶剂。试验结果表明, 粘合剂在正己烷中不溶解, 在甲苯和二氯甲烷中溶解不充分, 在乙腈、丙酮、乙酸乙酯中溶解性好。由于流动相选用了乙腈, 故溶剂也选用乙腈。

### 1.3.6 流动相筛选试验

选择流动相为乙腈-质量分数为 0.3% 的冰乙酸水溶液, 用三乙胺调节 pH 值至 4.5, 乙腈与水相体积比为 60:40, 检测波长为 248 nm 时, 在 3.9 min 出峰, 但是峰有拖尾, 拖尾因子为 1.14。随着 pH 值的增大, 峰拖尾有所改善, 当 pH 值为 5.0 时, 出峰时间提前至 3.6 min, 峰拖尾改善不明显; 当 pH 值为 3.5 时, 峰形不好, 拖尾明显。由此, 将流动相 pH 值确定为 4.5。

在流动相为乙腈-质量分数为 0.3% 的冰乙酸水溶液, 用三乙胺调节 pH 值至 4.5, 乙腈与水相体积比为 60:40, 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 248 nm 时, 样品在衍生物处出现 2 个包裹峰, 将水相比例提高, 流速降低, 能将 2 个包裹峰分开。由此, 将流动相确定为乙腈-质量分数为 0.3% 的冰乙酸水溶液, 用三乙胺调节 pH 值至 4.5, 乙腈与水相体积比为 53:47, 流速为 0.7 mL/min。

### 1.3.7 检测波长筛选试验

在上述流动相条件下, 检测波长为 248 nm 时, PET 膜材中出现衍生物的疑似峰, 采用二极管阵列检测器进行扫描, 分别提取衍生物的光谱 (见图 4) 和 PET 膜材衍生物疑似峰的光谱 (见图 5)。发现衍生物的最大吸收峰出现在 247 和 296 nm 处。PET 膜材中出现的衍生物疑似峰最大吸收值在 241 nm 处, 故可排除疑似峰的可能性。该疑似峰在 286 nm 处仍有较弱吸收, 并且该吸收峰一直持续到 310 nm 波长处。在 310 nm 波长处, 衍生物仍有较强吸收, 故将检测波长确定为 310 nm, 以排除疑似峰的干扰。

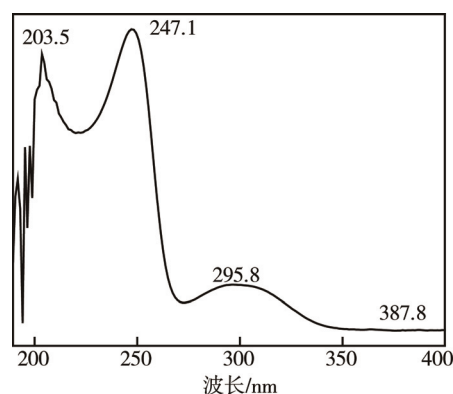


图 4 衍生物的光谱

Fig.4 The spectrogram of derived products

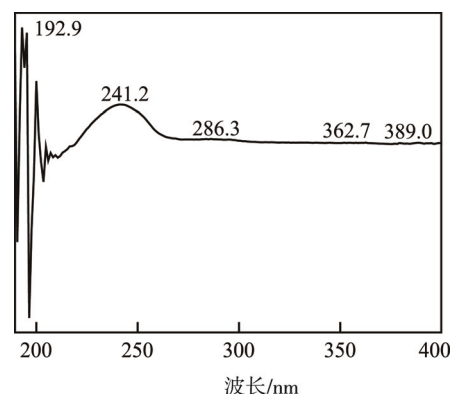


图 5 PET 膜材中疑似峰的光谱

Fig.5 The spectrogram of suspected peak in PET film

### 1.3.8 阴性试验

取未加粘合剂的 PET 硬片和 LDPE 膜材, 照 1.3.3 节样品溶液制备方法制备阴性样品, 进样测定, 记录色谱。在 PET 硬片和 LDPE 膜材衍生物的位置, 阴性基本无干扰。

## 2 结果与讨论

### 2.1 线性关系

取 2,4-TDI 对照品储备液, 分别配制质量浓度约为 1, 2, 5, 8, 10, 12  $\mu\text{g/mL}$  的溶液。精密量取上述液

性系列 2, 4-TDI 溶液各 1 mL, 各加入 1 mL 上述质量浓度为 102.4  $\mu\text{g/mL}$  的衍生剂溶液, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加乙腈稀释至刻度, 放置 20 min。制得质量浓度约为 0.1, 0.2, 0.5, 0.8, 1.0, 1.2  $\mu\text{g/mL}$  的衍生物溶液。过滤, 取 10  $\mu\text{L}$  注入液相色谱仪, 测定波长为 310 nm, 记录色谱。测量衍生物峰面积, 以质量浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标进行直线回归。由试验结果得到, 该曲线基本为一条经过原点的直线, 线性范围为 0~1.2  $\mu\text{g/mL}$ , 线性方程为  $Y=32216X-240.87$ , 相关系数为 0.9998, 线性关系良好。

## 2.2 检测限与定量限

取质量浓度为 0.05  $\mu\text{g/mL}$  的衍生物溶液 10  $\mu\text{L}$  注入液相色谱仪, 其信噪比为 9.06, 换算到信噪比为 10 计算定量限为 0.6  $\mu\text{g/g}$ 。取质量浓度为 0.05  $\mu\text{g/mL}$  的衍生物溶液 5 mL 至 10 mL 量瓶中, 用乙腈定容至刻度, 制得质量浓度为 0.025  $\mu\text{g/mL}$  的衍生物对照溶液, 取其 10  $\mu\text{L}$  注入液相色谱仪, 其信噪比为 4.87, 按信噪比为 3 计算出检测限为 0.2  $\mu\text{g/g}$ 。文中方法检出灵敏度高。

## 2.3 精密度

将质量浓度为 0.5  $\mu\text{g/mL}$  的衍生物溶液, 取 10  $\mu\text{L}$  注入液相色谱仪, 按上述色谱条件连续进样 6 次, 峰面积的相对标准偏差 (RSD) 为 1.52%, 结果表明仪器具有良好的精密度。

## 2.4 稳定性

将质量浓度为 0.5  $\mu\text{g/mL}$  的衍生物溶液取 10  $\mu\text{L}$  于不同时间 (间隔 2 h 进样一次, 共计 24 h) 注入液相色谱仪, 峰面积的 RSD 为 2.51%, 结果表明衍生物溶液在 24 h 内稳定性良好。

## 2.5 回收率

取批号为 2014010541 的供试样品 150 g, 将其剪成 0.5 cm $\times$ 0.5 cm 的细小颗粒, 混合均匀, 精密称取 9 份质量为 12.5 g 的样品, 分别向每份精密加入 2, 4-TDI 对照品储备液 (1104  $\mu\text{g/mL}$ ) 25, 62, 100  $\mu\text{L}$ 。照 1.3.3 节样品溶液制备方法制备样品, 每个浓度同法制备 3 份, 进样测定, 记录色谱图, 计算回收率。平均回收率为 102.63% ( $n=9$ ), 峰面积的 RSD 为 1.79%, 回收率好。

## 2.6 重复性

### 2.6.1 样品重复性

取批号为 2014010541 的复合硬片, 照 1.3.3 节样品溶液制备方法制备样品 6 份, 进样测定, 记录色谱图, 用峰面积计算衍生物含量, 再换算为 2, 4-TDI 单体含量。由结果可知, 6 份样品中均未检出 2, 4-TDI

单体残留。

### 2.6.2 回收重复性

取批号为 2014010541 的供试样品 100 g, 将其裁剪为 0.5 cm $\times$ 0.5 cm 的细小颗粒, 混合均匀, 精密称取 6 份质量为 12.5 g 的样品, 分别向每份样品中精密加入 2, 4-TDI 对照品储备液 (1104  $\mu\text{g/mL}$ ) 62  $\mu\text{L}$ 。照 1.3.3 节样品溶液制备方法制备样品。进样测定, 记录色谱图, 计算回收率。平均回收率为 101.04% ( $n=6$ ), 峰面积的 RSD 为 2.50%, 回收重复性好。

## 2.7 耐用性试验

利用美国 Waters2695-2489 和日本岛津 LC-20A 高效液相色谱仪 2 种仪器进行耐用性试验, 均能得到良好的线性曲线, 说明该方法耐用性良好。

## 2.8 样品测定

取各批号 PET/LDPE 口服液体药用复合硬片, 按照 1.3.3 节样品溶液制备方法制备样品, 进样测定, 记录色谱, 用峰面积计算衍生物含量, 再换算为 2, 4-TDI 单体含量。由试验结果可知, 各批号样品均未检出 2, 4-TDI 单体残留。

## 3 结语

文中方法具有快速、灵敏、高效的特点, 作为一种通用的检测方法, 在选择合适的样品前处理的条件下, 可进一步优化液相条件, 排除杂质干扰, 使文中方法可广泛应用于食品包装材料、药品包装材料、聚氨酯涂层、相关粘合剂及化工合成中间体等相关产品的检测。可广泛应用于含有活泼的  $\text{—N=C=O}$  官能团的异氰酸酯类, 如甲苯-2, 6-二异氰酸酯 (2, 6-TDI)、甲苯-2, 4-二异氰酸酯 (2, 4-TDI)、二苯基甲烷-4, 4'-二异氰酸酯 (MDI)、六亚甲基二异氰酸酯 (HDI) 的检测。

## 参考文献:

- [1] PRUEITT R L, RHOMBERG L R, GOOGMAN J E. Hypothesis-based Weight-of-evidence Evaluation of the Human Carcinogenicity of Toluene Diisocyanate [J]. *Critical Reviews in Toxicology*, 2013, 43(5): 391—435.
- [2] HAGMAR L, WELINDER H, MIKOCZY Z. Cancer Incidence and Mortality in the Swedish Polyurethane Foam Manufacturing Industry[J]. *British Journal of Industrial Medicine*, 1993, 50(6): 537—543.
- [3] HAGMAR L, STROMBERG U, WELINDER H. Incidence of Cancer and Exposure to Toluene Diisocyanate and Methylene Diphenyldiisocyanate: A Cohort Based Case-referent Study in the Polyurethane Foam Manufacturing Industry[J]. *British Journal of Industrial Me-*

- dicine, 1993, 50(11): 1003—1007.
- [4] MIKOCZY Z, WELINDER H, TINNERBERG H. Cancer Incidence and Mortality of Isocyanate Exposed Workers from the Swedish Polyurethane Foam Industry: Updated Findings 1959-98[J]. *Occupational and Environmental Medicine*, 2004, 61(5): 432—437.
- [5] 管健, 吴小琼, 朱国英. GC-MS法测定车间空气中甲苯二异氰酸酯探讨[J]. *中国卫生检验杂志*, 2010, 20(5): 998—1000.  
GUAN Jian, WU Xiao-qiong, ZHU Guo-ying. Determination of Toluene Diisocyanate (TDI) by GC-MS in Air of Work Place[J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2010, 20(5): 998—1000.
- [6] SCHMIDTKE F, SEIFERT B. Highly Sensitive High-performance Liquid Chromatographic Procedure for the Determination of Isocyanates in Air[J]. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 1990(8): 647—654.
- [7] 赵杰, 贾纯荣, 朱坦. 甲苯二异氰酸酯的毒性及室内相关标准[J]. *环境与健康杂志*, 2006, 23(1): 90—92.  
ZHAO Jie, JIA Chun-rong, ZHU Tan. Toxicity and Indoor Air Limit of Toluene Diisocyanate[J]. *Journal of Environment and Health*, 2006, 23(1): 90—92.
- [8] DAY B W, JIN R, BASALYGA D M. Formation, Solvolysis, and Transcarbamoylation Reactions of Bis (S-glutathionyl) Adducts of 2, 4- and 2, 6-diisocyanatotoluene[J]. *Chemical Research in Toxicology*, 1997, 10(4): 424—431.
- [9] LINDBERG H K, KOROI A, SANTONEN T. Micro-nuclei, Hemoglobin Adducts and Respiratory Tract Irritation in Mice after Inhalation of Toluene Diisocyanate (TDI) and 4, 4'-methylenediphenyl Diisocyanate (MDI)[J]. *Mutation Research*, 2011(1): 1—10.
- [10] 向仲朝, 先德强, 刘鹏程. 空气中甲苯二异氰酸酯的高效液相色谱测定法[J]. *环境与健康杂志*, 2011, 28(11): 1002—1003.  
XIANG Zhong-chao, XIAN De-qiang, LIU Peng-cheng. Determination of Toluene Diisocyanate in Air [J]. *Journal of Environment and Health*, 2011, 28(11): 1002—1003.
- [11] 熊中强, 王利兵, 李宁涛. 高效液相色谱/荧光检测法同时测定高分子材料中 6 种异氰酸酯[J]. *分析测试学报*, 2012, 31(1): 104—108.  
XIONG Zhong-qiang, WANG Li-bing, LI Ning-tao. Determination of Six Isocyanates in Polymer Material by High Performance Liquid Chromatographic Method with Fluorimetric Detection[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2012, 31(1): 104—108.
- [12] 蒋芳, 向仲朝, 杨文婉. 超高效液相色谱法测定水中的 2, 4-二氨基甲苯和 2,6-二氨基甲苯[J]. *中国卫生检验杂志*. 2017, 27(3): 341—343.  
JIANG Fang, XIANG Zhong-chao, YANG Wen-wan. Determination of 2, 4-Diaminotoluene and 2,6-Diaminotoluene in the Water by Ultra High Performance Liquid Chromatography[J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2017, 27(3): 341—343.
- [13] 王卉卉, 牛增元, 叶曦雯. 染色纺织品与皮革制品中 23 种禁用偶氮染料的高效液相色谱法测定[J]. *分析测试学报*, 2009, 28(8): 944—948.  
WANG Hui-hui, NIU Zeng-yuan, YE Xi-wen. Determination of Banned Azo Colorants in Dyes Textiles and Leather Products by High Performance Liquid Chromatography[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2009, 28(8): 944—948.
- [14] 钱跣, 金柔男, 赵亮. 高效液相色谱-紫外检测法同时测定染发剂中的 20 种染料成分[J]. *第二军医大学学报*, 2014, 35(1): 110—114.  
QIAN Xian, JIN Rou-nan, ZHAO Liang. HPLC-DAD for Simultaneous Determination of 20 Colorants in Hair Dyes[J]. *Academic Journal of Second Military Medical University*, 2014, 35(1): 110—114.
- [15] 贺春梅, 陈国强, 陈蓝天. 高效液相色谱对二苯甲烷 4, 4'-二异氰酸酯 (MDI) 及中间产物的快速测定[J]. *化学工程师*, 2014, 8(1): 40—42.  
HE Chun-mei, CHEN Guo-qiang, CHEN Lan-tian. Determination of Diphenylmethane 4, 4'-diisocyanate (MDI) and the Middle of Produce by Ulte Performance Liquid Chromatography[J]. *Chemical Engineer*, 2014, 8(1): 40—42.