ノート

塩素系ゴムの2-メルカプトイミダゾリン分析法の改良

(平成23年8月19日受理)

金子 令子^{1,*} 羽石奈穂子¹ 河村 葉子²

Improvement of 2-Mercaptoimidazoline Analysis in Rubber Products Containing Chlorine

Reiko KANEKO^{1,*}, Nahoko HANEISHI¹ and Yoko KAWAMURA²¹Tokyo Metropolitan Institute of Public Health;
3-24-1 Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan;²National Institute of Health Sciences;
1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan;

*Corresponding author

An improved analysis method for 2-mercaptoimidazoline in rubber products containing chlorine was developed. 2-Mercaptoimidazoline (20 µg/mL) is detected by means of TLC with two developing solvents in the official method. But, this method is not quantitative. Instead, we employed HPLC using water-methanol (9 : 1) as the mobile phase. This procedure decreased interfering peaks, and the quantitation limit was 2 µg/mL of standard solution. 2-Mercaptoimidazoline was confirmed by GC-MS (5 µg/mL) and LC/MS (1 µg/mL) in the scan mode. For preparation of test solution, a soaking extraction method, in which 20 mL of methanol was added to the sample and allowed to stand overnight at about 40°C, was used. This gave similar values to the Soxhlet extraction method (official method) and was more convenient. The results indicate that our procedure is suitable for analysis of 2-mercaptoimidazoline. When 2-mercaptoimidazoline is detected, it is confirmed by either GC/MS or LC/MS.

(Received August 19, 2011)

Key words: 2-メルカプトイミダゾリン 2-mercaptoimidazoline; 塩素系ゴム rubber containing chlorine; 器具 equipment; 容器包装 package

緒言

2-メルカプトイミダゾリン (エチレンチオ尿素) はエビクロロヒドリンゴム, クロロブレンゴム, 塩素化ブチルゴムなど塩素系ゴムに用いられる加硫促進剤である。発がん性が指摘されており, 1975年に米国FDAにおいてぼうこうがんの疑いがあるとの理由で食品接触用途 (器具・容器包装) に対して使用禁止とした¹⁾。またわが国では厚生労働省告示の「食品, 添加物等の規格基準」の中で食品用の塩素を含むゴム中の2-メルカプトイミダゾリンについてTLCによって検出されてはならないと定めている (検出限界 20 µg/g)²⁾。

しかしこの場合, ゴム製品には多くの添加剤が使用されているため, 薄層板上にさまざまな妨害スポットが出現し

判別が難しい場合がある。またTLCでは定量ができない, 検出限界が高いなどの難点がある。また判別には2種類の展開溶媒が必要であり, そのうちの1種類には発がん物質であるベンゼンが使用されている。さらに抽出操作にはソックスレー抽出器を用いて8時間抽出を行うため, 長時間を要するなどの問題もある。

そこでこれらを解決するために, 汎用されているHPLCによる測定および簡便な抽出法の検討を行った。

実験方法

1. 試料

クロロブレンゴムシート: 本試験のため製造業者より供与された下記の配合で作製された厚さ2.4 mmのクロロブレンゴム製シート。以下にポリクロロブレンを100とした配合割合で示す。ポリクロロブレン100部, カーボンブラック30部, 酸化亜鉛5部, 酸化マグネシウム4部, ステアリン酸0.5部, 以上に2-メルカプトイミダゾリンを0.8部配合したものおよび配合しないものの2種類。

* 連絡先 Reiko_Kaneko@member.metro.tokyo.jp

¹ 東京都健康安全研究センター: 〒169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

² 国立医薬品食品衛生研究所: 〒158-8501 東京都世田谷区上用賀1-18-1

クロロプレンゴム製品：市販のゴム5種（食品用が入手不能であったため非食品用を使用した），食品製造機器部品1種，平成14年製菓子焼き型1種の計7種。

2. 試薬，試液および標準溶液

2-メルカプトイミダゾリン：純度98%以上，東京化成工業(株)製；メタノール：高速液体クロマトグラフ用，2-メルカプトイミダゾリン標準溶液：2-メルカプトイミダゾリン200 mgを採り，メタノールに溶かして100 mLとした。この液0.5および1 mLを採り，メタノールを加えて100 mLとした(10, 20 $\mu\text{g/mL}$)。

HPLC用2-メルカプトイミダゾリン標準溶液：標準溶液(20 $\mu\text{g/mL}$) 1, 2, 5 mLを採り，それぞれメタノールに溶かして10 mLとした。これらの液および標準溶液各5 mLを採り，それぞれに水を加えて10 mLとした(1, 2, 5, 10 $\mu\text{g/mL}$)。

3. 装置

HPLC：1200 series, Agilent Technologies 社製

GC-MS: Voyager, Thermo Fisher Scientific 社製

LC-MS: Quattro Ultima Pt, Waters 社製

4. 試験溶液の調製

(1) ソックスレー法 「食品，添加物等の規格基準」規格試験（公定法）²⁾に従い，円筒ろ紙に細切した試料1.0 gを入れメタノール45 mLを加えソックスレー抽出器により8時間抽出した。ろ過し，メタノールで試料とフラスコを十分洗い，ろ液と洗液を合わせた抽出液を濃縮して約1 mLとしたものを試験溶液とした。

(2) 浸漬法 細切した試料1.0 gとメタノール20 mLを30 mLの共栓付フラスコに入れ，密栓をして40℃の恒温器に入れ一夜（約16時間）放置して浸漬した。これをろ過し，メタノールで試料とフラスコを十分洗い，ろ液と洗液を合わせた抽出液を濃縮し1 mLとしたものを試験溶液とした。

5. 2-メルカプトイミダゾリンの検出および定量

HPLC

試験溶液に水を加えて2 mLとし，かくはん後0.45 μm の前処理フィルターでろ過したものをHPLC用試験溶液とした。これを以下の測定条件により測定した。得られたピーク面積から，HPLC用標準溶液の検量線により定量を行った。

HPLC条件

カラム：ZORBAX Eclipse XDB-C18（4.6 mm i.d.×150 mm，粒径5 μm ）Agilent Technologies 社製，カラム温度：40℃，移動相：水-メタノール(9:1)，流速：1 mL/min，検出器：UV(238 nm)，注入量：5 μL

6. 2-メルカプトイミダゾリンの確認

2-メルカプトイミダゾリンが検出された場合の確認を，GC-MSおよびLC-MSを用いて検討した。

(1) GC-MS 試験溶液を下記条件のGC-MSに付し，得られたマススペクトルにより確認した。

Fig. 1. HPLC chromatograms of 2-mercaptoimidazoline

(1) standard solution (10 $\mu\text{g/mL}$), (2) polychloroprene rubber containing 2-mercaptoimidazoline 0.8 part extract (4-fold diluted test solution, 6 $\mu\text{g/mL}$), (3) 2-mercaptoimidazoline uncompounded rubber extract, (4) 2-mercaptoimidazoline uncompounded rubber spiked with 20 $\mu\text{g/mL}$ extract (10 $\mu\text{g/mL}$), (5) sample solution (1.8 $\mu\text{g/mL}$)

GC-MS条件

カラム: VF-5HT(0.25 mm i.d.×30 m, 膜厚0.1 μm) Varian社製, カラム温度: 150℃→5℃/min→200℃, 注入口温度: 250℃, インターフェイス温度: 250℃, キャリヤーガス: He, 1.0 mL/min, 注入量: 1 μL, イオン源温度: 250℃, イオン化電圧: 70 eV, 測定モード: SCAN (m/z : 40~150)

(2) **LC-MS** 試験溶液を下記条件のLC-MSに付し, 得られたマススペクトルにより確認した.

LC-MS条件

カラム: Inertsil ODS-3 (2.1 mm i.d.×100 mm, 粒径5 μm), (株)ジエールサイエンス製, カラム温度: 40℃, 移動相: 水-メタノール(9:1), 流速: 0.2 mL/min, イオン化法: ESI(-), キャピラリー電圧: 2.5 kV, イオン源温度: 120℃, 脱溶媒温度: 400℃, 脱溶媒ガス流量: N₂ 650 L/hr, コーンガス流量: N₂ 50 L/hr, コーン電圧: 25 V, 測定モード: SCAN (m/z : 50~150), 注入量: 5 μL

結果および考察

1. HPLCによる2-メルカプトイミダゾリンの検出および定量

測定条件について検討を行った. 検出波長については, 2-メルカプトイミダゾリンの極大吸収であるUV238 nmを検出波長とした. まず移動相にメタノールを用いて測定したところ, 2-メルカプトイミダゾリンは1.3分にピークが出現したが, 試験溶液については同時に抽出された添加剤による妨害が認められ, 測定不能であった. そこで2-メルカプトイミダゾリンは水に溶解する(2 g/100 mL)ことから, 試験溶液に同量の水を加えたところ白色の水不溶物が析出したため, ろ過を行った. この操作により, 脂溶性の添加剤の多くが除去され, 結果的に試験溶液が精製されたものと考えられた. また移動相の水の比率を高め, 水-メタノールの比を(9:1)とすることにより脂溶性の添

加剤の出現を抑えることができた. この操作は1.3分と短い2-メルカプトイミダゾリンの保持時間を1.7分と多少遅らせる効果もあった. この測定条件により良好なピークが得られ, 妨害ピークは特に認められなかった.

HPLC用標準溶液のHPLCクロマトグラムをFig. 1(1)に示した. 2-メルカプトイミダゾリン標準溶液の検量線(1~10 μg/mL)は相関係数0.999と良好であった. また定量限界は1 μg/mL(試料当たり2 μg/g)であり, TLCによる公定法の検出限界(20 μg/g)の10倍の高感度を得られた.

2. 試験溶液の調製

2-メルカプトイミダゾリン配合および無配合のクロロプレナムシートを用いて, ゴム中の2-メルカプトイミダゾリンの抽出条件について検討を行った.

まず公定法に従い, メタノール約45 mLでソックスレー抽出器を用いて8時間抽出を行った. 試験法には試料の形状について記載はないが抽出効率を上げるため細切した. また操作が簡便な浸漬抽出法を行い, ソックスレー法と比較した. 細切した試料にメタノール20 mLを加え40℃で一夜浸漬抽出を行った.

配合ゴムシート中の2-メルカプトイミダゾリンは, それぞれ $n=3$ でソックスレー法 42.0 ± 4.2 , 浸漬法 48.0 ± 6.8 μg/g検出され, ほぼ同等かそれ以上であった. 無配合のゴムシートからは検出されなかった(Fig. 1(2), (3)). 以上より試験溶液の調製は, 溶媒量, 簡便性, 特殊な器具を必要としないなどの面から浸漬法が適当であると考えられた.

3. 2-メルカプトイミダゾリンの確認

GC-MSおよびLC-MSを用いて2-メルカプトイミダゾリンの確認を行った.

(1) **GC-MS** GC-MSについては, 2-メルカプトイミダゾリンは沸点が347℃と高く揮発しにくいいため, 無極性のポリジメチルシロキサン系で0.1 μmと膜厚の薄いカラ

Fig. 2. GC-MS scan chromatogram of 2-mercaptoimidazoline standard solution (5 μg/mL)

ムを用いてSCANモードで検討したところ、ピークは検出されたが、小さくテーリングがあり形状は不良であった。しかし標準溶液として5 $\mu\text{g/mL}$ にメタノールで調製した溶液で2-メルカプトイミダゾリンの分子イオンの102および104, フラグメントイオンの73が見いだされ、マススペクトルによる確認が可能であることがわかった。標準溶液のマスクロマトグラム(保持時間4.3分)およびスペクトルをFig. 2および3に示した。メタノール溶液であるため脂溶性の添加剤を多く含有しており、試料によってはそれらによる妨害の可能性も考えられたことから、LC-MSによる検討を行った。

(2) LC-MS LC-MSについてはカラムにInertsil

Fig. 3. GC-MS spectrum of 2-mercaptoimidazoline standard solution (5 $\mu\text{g/mL}$)

ODS-3 を用いて検討した。SCANモードで、HPLC用標準溶液1 $\mu\text{g/mL}$ で、2-メルカプトイミダゾリンの[M-H]⁻イオンの101, フラグメントイオンの89が認められ、マススペクトルによる確認が可能であった。また50%水溶液であるため、GC-MSに比較して脂溶性添加剤による妨害が少なかった。HPLC用標準溶液のマスクロマトグラム(保持時間1.4分)およびスペクトルをFig. 4および5に示した。

4. 添加回収試験

以上より2-メルカプトイミダゾリンを、浸漬抽出法により試験溶液を調製し、HPLCにより測定することとした。この方法を用い、2-メルカプトイミダゾリン無配合のクロロプレンゴムシート1 gに、標準溶液(20 $\mu\text{g/mL}$)を1 mL添加し $n=3$ で添加回収試験を行った。その結果、98 $\pm$ 2%の良好な回収率が得られた(Fig. 1(4))。

5. 市販クロロプレンゴムの測定結果

同様の方法を用い、市販クロロプレンゴム5種および食品製造機器部品1種を $n=3$ で測定した。その結果、市販品1種から2-メルカプトイミダゾリン3.6 $\pm$ 0.2 $\mu\text{g/g}$ が検出された(Fig. 1(5))。

6. ゴム製品中の2-メルカプトイミダゾリン含有量の経時変化

同様の方法を用い、作製から6か月後の2-メルカプトイミダゾリン0.8部配合クロロプレンゴムシートおよび平成14年製菓子焼き型の2-メルカプトイミダゾリン含有量を $n=3$ で測定した。クロロプレンゴムシートは作製時の48 $\mu\text{g/g}$ から2.8 $\mu\text{g/g}$ 、菓子焼き型は9年前(公定法によるTLC測定)の20 $\mu\text{g/g}$ 以上から3.1 $\mu\text{g/g}$ と、どちらも減少していた。以上より2-メルカプトイミダゾリンは加硫促進剤であるため、製造過程で加硫促進反応に消費され分解する。製品となってもさらに分解しており、経時的に含有量が減少していくことが分かった。

Fig. 4 LC-MS scan chromatogram of 2-mercaptoimidazoline standard solution (1 $\mu\text{g/mL}$)

Fig. 5. LC-MS spectrum (negative mode) of 2-mercaptoimidazoline standard solution (1 µg/mL)

結 論

食品用の塩素を含むゴム中の2-メルカプトイミダゾリンの試験溶液調製法および測定法の検討を行った。

試験溶液の調製法としては、試料を共栓付フラスコに入れメタノール 20 mLを加え密栓し約 40℃で一夜放置する

浸漬法により、公定法のソックスレー法とほぼ同等の測定値が得られた

測定法としては、HPLCを用い、移動相を水-メタノール(9:1)とし、メタノール抽出試験溶液に水を加えて50%メタノール溶液とすることにより妨害ピークの影響を抑えることができ、標準溶液で1 µg/mL(材質当たり2 µg/g)まで良好に測定できた。

確認法としては、GC-MSのSCANモードで標準溶液5 µg/mL, LC-MSのSCANモードで標準溶液1 µg/mLまでマススペクトルの確認が可能であった。

謝 辞

本研究は、平成21年度厚生労働科学研究費補助金食品の安心・安全確保推進研究事業「食品用器具・容器包装、乳幼児用玩具および洗浄剤の安全性確保に関する研究」により行った。その内容の一部は、日本薬学会第131年会(2011年3月、静岡)において発表した。

文 献

- 1) 日本薬学会編 “衛生試験法・注解2005” 2005, p. 644.
- 2) 食品衛生研究会編 “平成23年度版食品衛生小六法” 2010, p. 1721.