報 文

ラップフィルムおよびキャップシーリング中の
エポキシ化大豆油およびエポキシ化亜麻仁油の分析

(平成 17 年 11 月 11 日受理)

菅野 慎二* 河村 葉子*,† 六 鹿 元 雄* 棚 元 憲 一*

Determination of Epoxidized Soybean Oil and Linseed Oil in Wrapping Film and Cap Sealing

Shinji KANNO, Yoko KAWAMURA†, Motoh MUTSUGA and Kenichi TANAMOTO

(*National Institute of Health Sciences: 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku,
Tokyo 158-8501, Japan; † Corresponding author)

A determination method was developed for epoxidized soybean oil (ESBO) and epoxidized linseed oil (ELO), which are used as plasticizers and/or stabilizers, in wrapping film and cap sealings. The ESBO method reported by Castle *et al.* was improved. Samples were extracted with acetone-hexane (3:7), transmethylated under alkaline conditions, then derivatized to the 1,3-dioxolanes and analyzed by GC/MS. The recoveries of spiked ESBO and ELO were between 92.6% and 104.4%. The determination limits were 0.01 mg/g for ESBO and 0.02 mg/g for ELO in the wrapping film, and 0.04 mg/g and 0.08 mg/g in the cap sealing. ESBO and ELO were surveyed in 10 samples each of wrapping film and cap sealings currently available on the Japanese market. ESBO was found at 34.7–82.8 mg/g in polyvinyl chloride (PVC) wrapping films and at 5.47–399 mg/g in cap sealings. ELO was detected at 8.6–11.4 mg/g in polyvinylidene chloride (PVDC) wrapping films, and at 46.4 mg/g in a PVC wrapping film.

Key words: ラップフィルム wrapping film; キャップシーリング cap sealing; エポキシ化大豆油 epoxidized soybean oil; エポキシ化亜麻仁油 epoxidized linseed oil; 可塑剤 plasticizer; 安定剤 stabilizer; ポリ塩化ビニル polyvinyl chloride; ポリ塩化ビニリデン polyvinylidene chloride

緒 言

エポキシ化大豆油 (ESBO) は、ポリマーに柔軟性を与える可塑剤としての特性と、ポリマーから遊離する塩素をトラップしてポリマー鎖の切断および脆弱化を防ぐ安定剤としての特性を併せ持つ添加剤である。また、耐熱温度が高く、原料が大豆油であることから安全性が高いと考えられ、食品用途のポリ塩化ビニル (PVC) 製ラップフィルムや瓶詰キャップのシーリングなどに使用されている。

原料である大豆油の平均的な脂肪酸組成はパルミチン酸 10.3%、ステアリン酸 3.8%、オレイン酸 24.3%、リノール酸 52.7%、リノレン酸 7.9% である。ESBO はオレイン酸、リノール酸およびリノレン酸の二重結合を、過酸化水素や過酸化酸などの活性酸素によりエポキシ化して製造される。その構造は Fig. 1 に示すように 3 分子の脂肪酸がグリセロールにエステル結合しており、結合する脂肪酸の組み合わせによるさまざまなトリアシルグリセロールの混合物である。

ヨーロッパでは、PVC 製キャップシーリングから移行

した瓶詰ベビーフード中の ESBO について調査が行われており、Castle ら¹⁾、Hammarling ら²⁾、英国農漁業食糧省 (MAFF)³⁾、Fantoni ら⁴⁾ などの報告がある。Fantoni ら⁴⁾ の報告では、瓶詰ベビーフード 248 検体のうち 95 検体から ESBO が検出され、その最高濃度は 135 mg/kg であり、試料の約 15% は 30 mg/kg 以上、約 4% はプラスチックの総移行量試験の限度値である 60 mg/kg を上回った。

一方、欧州委員会の食品科学委員会 (SCF) は ESBO の安全性評価を行い、ラットの 2 年間反復投与試験の最大無毒性量 (NOAEL, 140 mg/kg 体重/日) から耐容一日摂取量 (TDI) として 1 mg/kg 体重/日を設定している。

Fig. 1. Structure of components of epoxidized soybean oil (ESBO) and epoxidized linseed oil (ELO)

† 連絡先

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

ただし、発ガン性、催奇形性および遺伝毒性は認められていない⁵⁾。ベビーフードの調査結果から、6～12 カ月児ではESBO摂取量がTDIの4～5倍以上になりうるということが明らかとなった⁶⁾。

また、Castle ら⁷⁾はラップフィルム、キャップシーリングなど食品用器具・容器包装中のESBO含有量について調査し、Hammarling ら²⁾、Fantoni ら⁴⁾も瓶詰ベビーフードのキャップシーリング中のESBOについて報告している。Fantoni ら⁴⁾によると瓶詰ベビーフードのキャップシーリング中のESBO含有量は10.2～37.4%、平均25%であった。

我が国ではこれまで食品用器具・容器包装中のESBO含有量や食品への移行に関する調査は行われておらず、その実態は明らかではない。また、我が国ではエポキシ化亜麻仁油(ELO)も使用されているが、これに関する報告も全く見られない。そこで本研究では、ESBOおよびELOの分析法を検討するとともに、我が国の市場に流通するラップフィルムおよび瓶詰食品のキャップシーリング中のESBOおよびELOの分析を行ったので報告する。

実験方法

1. 試料

ラップフィルム：PVC製家庭用、業務用各4検体、PVDC製家庭用2検体；キャップシーリング：PVC製10検体（各種瓶詰食品のキャップに装着されていたもの）

2. 試薬

ESBOおよびELO：ダイセル化学工業(株)製

アセトン、ジクロロメタン、ヘキサン：残留農薬分析用；塩化ナトリウム、2,2,4-トリメチルペンタン：試薬特級以上シグマアルドリッチジャパン(株)製；シクロペンタノン：純度99%、三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体以上SIGMA-ALDRICH社製；メタノール：HPLC用、メルク社製

水：MILLI-Q SP (Millipore社製)による超純水

トリデカン酸メチル溶液：*n*-トリデカン酸メチル（東京化成工業(株)製）400 mgを精ひょうし、アセトン-ヘキサン(3:7)混液に溶解して20 mLとした。

ナトリウムメトキシド溶液：ナトリウムメトキシド（純度95.0%、片山化学工業(株)製）54 mgをメタノールに溶解して50 mLとした。

ESBOおよびELO誘導体標準溶液：ESBOまたはELOをジクロロメタンに溶解して1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ とした。この溶液1 mLにトリデカン酸メチル溶液1 mLを加え、誘導体法に従って操作し標準原液とした。これを2,2,4-トリメチルペンタン-シクロペンタノン(2:3)混液で適宜希釈し標準溶液とした。

3. 装置および器具

ガスクロマトグラフ/質量分析計(GC/MS)：6890 Series PLUS, 5973 以上Agilent社製

遠心濃縮装置：CVE-100 東京理化器械(株)製

4. GC/MS測定条件

カラム：DB-5 ms（長さ15 m、内径0.25 mm、膜厚0.1 μm ）Agilent社製、カラム温度：140°C-10°C/min-300°C（15 min）、注入口温度：250°C、トランスファーライン温度：280°C、イオン化電圧：70 eV、キャリアガス：He 2.0 mL/min（定流量）、注入量：1 μL 、スプリット比：10:1、測定モード：SCAN (m/z 40～700)またはSIM (m/z 55, 277, 291, 309, 367)

5. 試験溶液の調製

1) 抽出法

ラップフィルムははさみで細切して200 mgを試験管に採り、アセトン-ヘキサン(3:7)混液5 mLを加えて室温で30分間振とうした。上清を遠沈管に採り、残渣にアセトン-ヘキサン(3:7)混液5 mLを加えて再度抽出し、上清および残渣の洗液を遠沈管に合わせた。トリデカン酸メチル溶液1 mLを加えて混和した後、遠心濃縮装置により約2 mLまで濃縮して抽出液とした。

キャップシーリングは試料採取量を50 mg、アセトン-ヘキサン(3:7)混液を2 mLとし、それ以外はラップフィルムと同様に操作した。

2) 誘導体法

抽出液にナトリウムメトキシド溶液3 mLを加えて混和し、密栓後60°Cの恒温チャンバー内で時々かくはんしながら2時間加温した。放冷後、白色の析出物がある場合にはひだろ紙でろ過してメタノールで洗浄した。遠心濃縮装置で溶媒を除去後、2,2,4-トリメチルペンタン1 mL、シクロペンタノン1.5 mL、三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体0.5 mLを加えて直ちに30分間振とうした。2 mol/L塩化ナトリウム溶液1 mLを加えて15分間振とう後、上層の有機層を採り試験溶液とした。この試験溶液をそのまままたは2,2,4-トリメチルペンタン-シクロペンタノン(2:3)混液で2～100倍に希釈した溶液をGC/MSで測定した。

実験結果および考察

1. 測定法の検討

ESBOおよびELOは、Castle ら¹⁾およびFantoni ら⁴⁾に従い、ナトリウムメトキシド溶液によりエステル分解とメチル化を行い、次に2,2,4-トリメチルペンタン、シクロペンタノンおよび三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体によりエポキシ基に1,3-ジオキソランを導入することとした。これらの反応により、ESBOやELOの構成成分のうち、パルミチン酸およびステアリン酸はパルミチン酸メチルおよびステアリン酸メチルとなるが、エポキシ化オレイン酸、エポキシ化リノール酸およびエポキシ化リノレン酸は、カルボン酸基がメチル化されるとともに、エポキシ基に1,3-ジオキソランが導入された誘導体となる。

GC/MS測定条件はこれまでESBOのみを対象としたものであったことから、ESBOおよびELOの両者の誘導体の測定に最適な条件を検討した。カラムについては、

Fig. 2. Total ion chromatograms of epoxidized soybean oil (ESBO) and epoxidized linseed oil (ELO)

A: methyl palmitate, B: methyl stearate, C: 1,3-dioxolane derivative of methyl epoxyoleate, D, E: 1,3-dioxolane derivative of methyl diepoxylinoleate, F~I: 1,3-dioxolane derivative of methyl triepoxylinolenate

Castle ら¹⁾と同様の無極性カラムである DB-1 ms と微極性の DB-5ms (両者とも内径 0.25 mm, 長さ 15 m, 膜厚 0.1 μ m) を比較したところ, いずれも ESBO 誘導体だけでなく ELO 誘導体のすべてのピークを分離でき, 感度も同程度であった。しかし, DB-5ms のほうがベースラインおよびピーク形状が良好で再現性が優れていたことから DB-5ms を採用した。また, カラム温度は ELO の測定およびピークの分離を考慮して 140°C–10°C/min–300°C (10 min) とした。

Fig. 2 に示すように, ESBO 誘導体標準溶液のトータルイオンクロマトグラム (TIC) では, パルミチン酸およびステアリン酸のメチル化体, エポキシ化オレイン酸およびエポキシ化リノール酸誘導体のピークが得られた。そのうちエポキシ化リノール酸誘導体は, 立体異性により 2 本のピークを示した。

一方, ELO 誘導体標準溶液の TIC では, 上記の ESBO と同じ 5 本のピークが観察されたが, そのうちエポキシ化リノール酸誘導体の 2 本のピークは ESBO よりかなり小さかった。また, それらのほかにエポキシ化リノレン酸誘導体の 4 本の立体異性体ピークがみられた。大豆油ではリノレン酸含有量が低く, 亜麻仁油では高いことによる。この 4 本のピークの有無により ESBO との識別を行うことが可能であった。

ESBO および ELO は前述のような 4 または 5 種類の脂肪酸誘導体のピークを示すが, そのうちパルミチン酸およ

びステアリン酸は特異性が低いことから, エポキシ化脂肪酸の誘導体のみを測定対象とした。エポキシ化オレイン酸, エポキシ化リノール酸およびエポキシ化リノレン酸誘導体のマスペクトルを Fig. 3 に示した。後二者においてそれぞれの立体異性体はいずれも一致したマスペクトルを示した。そこで, 定量用フラグメントイオンとして, エポキシ化オレイン酸は m/z 367, エポキシ化リノール酸は m/z 309, エポキシ化リノレン酸は m/z 291 を用いた。

2. 各種 ESBO および ELO の標準品の検討

ESBO および ELO の標準品は販売されていない。また, それらの工業品は天然物である大豆油および亜麻仁油から製造されるため, 製品によりその脂肪酸組成などは多少異なると考えられた。そこで, 国内外の主要メーカーの前者 6 製品, 後者 2 製品を収集した。各製品をジクロロメタンに溶解して 100 μ g/mL としたものを 1 mL 採り, トリデカン酸メチル溶液 1 mL を加えて誘導体化法に従って反応させた後, GC/MS/TIC により各エポキシ脂肪酸のピーク強度を求めた。

ESBO はいずれの製品もエポキシ化体の合計ピーク強度がほぼ $\pm 10\%$ の範囲内でかなり近似していた。そのうち, ダイセル化学工業(株)の製品は最も高い強度を示し, エポキシ化体の含有量が最も高いと判断された。また, その組成比も製品ごとに若干の差異が見られたが, 当該品は全製品の平均値とほぼ一致していたため, これを ESBO 標準品として用いることとした。

ELO についても 2 社の製品を比較したところ, 両者の組成比はかなりよく一致していた。そこでエポキシ化体含有量が高いダイセル化学工業(株)製を標準品とした。

標準品に用いた製品の各エポキシ化体の組成比は, ESBO ではエポキシ化オレイン酸が 40%, エポキシ化リノール酸-1 が 25%, 同-2 が 35% であった。また ELO はエポキシ化オレイン酸が 37%, エポキシ化リノール酸-1 が 8%, 同-2 が 13%, エポキシ化リノレン酸-1 が 7%, 同-2 が 12%, 同-3 が 10%, 同-4 が 14% であった。

3. 抽出法の検討

Fantoni ら⁴⁾は抽出溶媒にジクロロメタンを用い, 室温で 30 分間の振とう抽出としていたが, PVC 製ラップフィルムや一部のキャップシーリングは膨潤して極めて軟らかいゲル状となり, 上清と残渣の分離が困難であった。そこで, ESBO 含有 PVC 製ラップフィルムおよびキャップシーリング, ELO 含有 PVDC 製ラップフィルムを用い, ジクロロメタン, アセトニトリル, アセトン–ヘキサン (1:1) 混液およびアセトン–ヘキサン (3:7) 混液による抽出を比較した。PVC 製キャップシーリングとしてはジクロロメタンによりゲル化する試料としない試料の 2 種類を用いた。

Table 1 に各試料に含有される ESBO と ELO の別, およびそれぞれの抽出溶媒における抽出量を示した。PVC 製ラップフィルムではジクロロメタンを用いるとゲル化して抽出液の回収が困難なため抽出量が低く, 吸引ろ過を

Fig. 3. Mass spectra of 1,3-dioxolane derivatives of (A) methyl epoxyoleate, (B) methyl diepoxylinoleate and (C) methyl triepoxylinolenate

Table 1. Effect of Extraction Solvent on Extracted Levels of ESBO and ELO from Containing Samples

	Material	Contained compound	Extracted level (mg/g)			
			Dichloromethane	Acetonitrile	Acetone : Hexane (1 : 1)	Acetone : Hexane (3 : 7)
Wrapping film 1	PVC	ESBO	21.0 (1.00)*	34.2 (1.63)	33.8 (1.61)	34.7 (1.65)
Wrapping film 9	PVDC	ELO	6.30 (1.00)	4.20 (0.67)	8.00 (1.27)	8.60 (1.37)
Cap sealing 1	PVC	ESBO	5.40 (1.00)	—	5.40 (1.00)	5.47 (1.01)
Cap sealing 10	PVC	ESBO	352 (1.00)*	—	374 (1.06)	399 (1.13)

(): The ratio of extracted level based on that of dichloromethane

*Sample showed gelling.

行っても改善されなかった。しかし、その他の溶媒ではゲル化は起こらず、いずれもジクロロメタンのほぼ 1.6 倍に相当する抽出量であった。一方、PVDC 製ラップフィルムではアセトニトリルが明らかに低値を示した。PVC 製シーリングではジクロロメタンによりゲル化しないものはいずれの抽出溶媒でも差が見られなかったが、ゲル化する試料ではアセトン-ヘキサン (3 : 7) 混液が最も高い抽出率を示した。この溶媒はいずれの試料においても膨潤せず上清の分取が容易であり、しかも PVC の溶解による白色析出物も少なかった。そこで、抽出溶媒にはアセトン-ヘキサン (3 : 7) 混液を用いることとした。

4. 添加回収実験および定量限界

ESBO または ELO の添加量、回収率および試料中の含有量を Table 2 に示した。抽出溶媒の検討と同じ 4 試料を用い、ESBO および ELO を添加して 30 分間静置後試験溶液の調製を行った。各試料はもとより ESBO または

ELO を 5.5～399 mg/g 含有しているため、添加量は含有量の 1.5～3.6 倍に相当する 20～800 mg/g とした。いずれの試料も 92.6～104.4% と良好な回収率であり、再現性も良いことが示された。

ESBO および ELO の定量限界は、SIM モードの場合、ラップフィルムで 0.01 および 0.02 mg/g、キャップシーリングで 0.04 および 0.08 mg/g であった。また SCAN モードの場合はそれらの 10 倍であった。

5. 市場流通品の調査

我が国の市場で流通する家庭用および業務用 PVC 製ラップフィルム各 4 検体、家庭用 PVDC 製ラップフィルム 2 検体、および各種瓶詰食品のキャップに装着されていた PVC 製シーリング 10 検体について ESBO および ELO の使用実態および含有量を調査した (Table 3)。

PVC 製ラップフィルム 8 検体のうち 7 検体から ESBO、1 検体から ELO が検出された。その含有量は

Table 2. Recoveries of ESBO and ELO Spiked in Wrapping Film and Cap Sealings

	Material	Contained		Spiked		Recovery (%)
		Compound	Amount (mg/g)	Compound	Amount (mg/g)	
Wrapping film 1	PVC	ESBO	34.7	ESBO	50	93.1±4.0
				ELO	50	92.6±2.3
Rapping film 9	PVDC	ELO	8.60	ELO	20	96.4±7.3
Cap sealing 1	PVC	ESBO	5.47	ESBO	20	104.4±3.1
				ELO	20	101.1±5.8
Cap sealing 10	PVC	ESBO	399	ESBO	800	100.9±1.6

Each value of recovery is the mean±S.D. of 4 trials.

Table 3. Contents of ESBO and ELO in Wrapping Film and Cap Sealings on the Japanese Market

	Material	Compound	Content (mg/g)				Total
			Mono	Di-1	Di-2	Tri	
Wrapping film 1	PVC	ESBO	14.5	8.37	11.8	—	34.7
Wrapping film 2	PVC	ESBO	21.5	3.65	5.46	15.7	46.4
Wrapping film 3	PVC	ESBO	24.5	12.6	17.3	—	54.4
Wrapping film 4	PVC	ELO	23.8	13.9	19.6	—	57.3
Wrapping film 5	PVC	ESBO	28.2	14.6	20.4	—	63.2
Wrapping film 6	PVC	ESBO	28.1	16.0	22.8	—	66.9
Wrapping film 7	PVC	ESBO	31.9	18.5	26.5	—	76.9
Wrapping film 8	PVC	ESBO	34.7	19.6	28.5	—	82.8
Wrapping film 9	PVDC	ELO	3.23	0.74	1.14	3.49	8.60
Wrapping film 10	PVDC	ELO	4.50	1.00	1.47	4.46	11.4
Cap sealing 1	PVC	ESBO	2.34	1.36	1.77	—	5.47
Cap sealing 2	PVC	ESBO	4.60	2.85	3.61	—	11.1
Cap sealing 3	PVC	ESBO	60.9	38.9	52.2	—	152
Cap sealing 4	PVC	ESBO	70.7	49.3	66.6	—	187
Cap sealing 5	PVC	ESBO	92.5	60.1	83.6	—	236
Cap sealing 6	PVC	ESBO	100	62.0	91.1	—	253
Cap sealing 7	PVC	ESBO	123	70.6	102	—	296
Cap sealing 8	PVC	ESBO	141	80.5	115	—	337
Cap sealing 9	PVC	ESBO	140	84.4	121	—	345
Cap sealing 10	PVC	ESBO	158	97.0	144	—	399

Mono: epoxyoleic acid, Di-1: diepoxylinoleic acid-1, Di-2: diepoxylinoleic acid-2,

Tri: sum of triepoxylinolenic acid-1-4

34.7～82.8 mg/g であり、ESBO と ELO の含有量は同程度であった。一方、PVDC 製ラップフィルムは 2 検体とも ELO を含有しており、その平均含有量は 10 mg/g と PVC 製ラップフィルムの数分の 1 と低かった。ラップフィルム中の ESBO および ELO 含有率は数％程度であり、可塑剤としてではなく、ポリマーから遊離する塩素をトラップする安定剤として添加されたものと推定された。なお、PVC および PVDC 製ラップフィルム中の ESBO および ELO は、それぞれの標準品の組成とかなりよく一致しており、両者の判別は容易であった。

一方、PVC 製キャップシーリングでは全試料から ESBO が検出されたが、ELO の使用は認められなかった。その含有量は 5.47～399 mg/g と製品により約 70 倍の差が見られた。キャップシーリング 1 および 2 の含有量は 5.47 および 11.1 mg/g で、PVDC ラップフィルムと同程度であり、安定剤として添加されたものと考えられた。一方、他の 8 検体は含有量が 150 mg/g 以上であり、可塑剤として添加されたものと推定された。

結 論

Castle ら¹⁾および Fantoni ら⁴⁾が報告した GC/MS による ESBO 分析法について、GC/MS 測定条件および抽出溶媒を改良した。その結果、ESBO だけでなく ELO の分析も可能となり、また抽出時の操作性が向上した。

さらに、本法を用いて我が国の市場に流通する PVC 製および PVDC 製ラップフィルム、PVC 製キャップシーリング中の ESBO および ELO の含有量を調査した。その結果、すべてのラップフィルムから ESBO または ELO が検出され、すべてのキャップシーリングから ESBO が検出された。我が国のキャップシーリングにはヨーロッパと同様 ESBO が使用されており、ラップフィルムには ELO も使用されていることが示された。

今後さらに多くの製品の調査や食品への移行に関する調査が必要と考える。

謝 辞

本研究は、平成 16 年度厚生労働科学研究補助金食品の安全性高度化推進研究事業「食品用器具・容器包装および

乳幼児用玩具の安全性確保に関する研究」により行った。

文 献

- 1) Castle, L., Sharman, M., Gilbert, J., Analysis of the epoxidised soya bean oil additive in plastics by gas chromatography. *Journal of Chromatography*, **437**, 274–280 (1988).
- 2) Hammarling, L., Gustavsson, H., Svensson, K., Karlsson S., Oskarsson A., Migration of epoxidized soya bean oil from plasticized PVC gaskets into baby food. *Food Additives and Contaminants*, **15**, 203–208 (1998).
- 3) Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (MAFF), Survey of epoxidised soya bean oil (ESBO) migration from plasticised gaskets. *Food Surveillance Information Sheet*, **186** (1999).
- 4) Fantoni, L., Simoneau, C., European survey of contamination of homogenized baby food by epoxidized soybean oil migration from plasticized PVC gaskets. *Food Additives and Contaminants*, **20**, 1,087–1,096 (2003).
- 5) The British Industrial Biological Research Association (BIBRA), Toxicity profile: epoxidised soy bean oil. (1997).
- 6) EFSA, Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food (AFC) on a request from the Commission related to the use of Epoxidised soybean oil in food contact materials. *The EFSA Journal*, **64**, 1–17 (2004).
- 7) Castle, L., Mayo, A., Gilbert, J., Migration of epoxidised soya bean oil into foods from retail packaging materials and from plasticised PVC film used in the home. *Food Additives and Contaminants*, **7**, 29–36 (1990).