

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<sup>5)</sup>。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<sup>6)</sup>。

また、Castleら<sup>7)</sup>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<sup>2)</sup>、Fantoniら<sup>4)</sup>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<sup>4)</sup>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、誘導体化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  $\mu\text{m}$ ）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  $\mu\text{L}$ 、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) 誘導体化法

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時間加熱した。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<sup>1)</sup>およびFantoniら<sup>4)</sup>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、

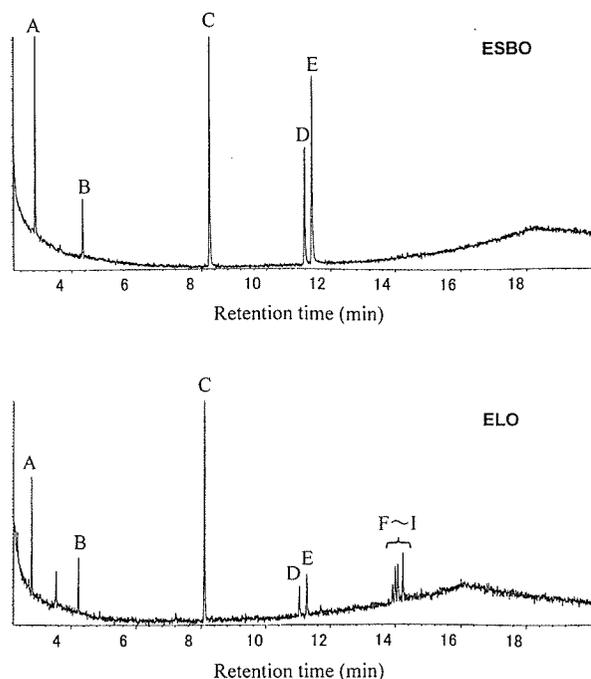


Fig. 2. Total ion chromatograms of epoxidized soybean oil (ESBO) and epoxidized linseed oil (ELO)

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<sup>1)</sup>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  $\mu\text{m}$ ) 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  $\mu\text{g}/\text{mL}$  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<sup>4)</sup>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

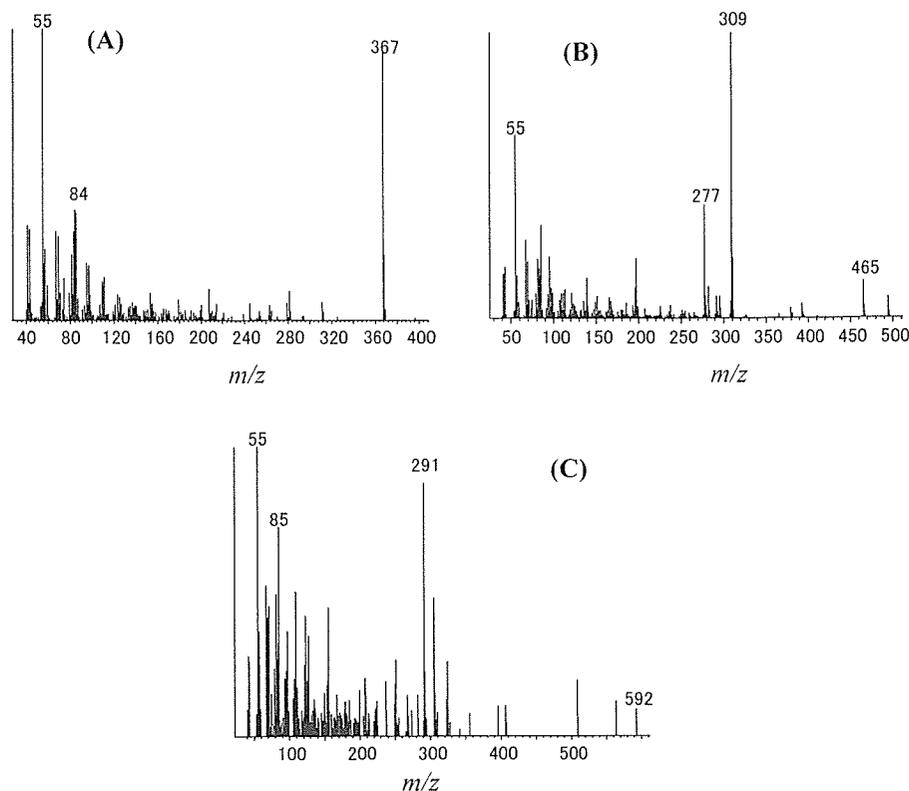


Fig. 3. Mass spectra of 1,3-dioxolane derivatives of (A) methyl epoxyoleate, (B) methyl diepoxylinoleate and (C) methyl triepoxylinolenate

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。各試料はもともと 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<sup>1)</sup> および Fantoni ら<sup>4)</sup> 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).

## 調査・資料

## 瓶詰キャップシーリング中のエポキシ化大豆油の調査

(平成 18 年 3 月 2 日受理)

菅野 慎二\* 河村 葉子\*† 六鹿 元雄\* 棚元 憲一\*

## Survey of Epoxidized Soybean Oil in Cap Sealing for Bottled Foods

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)

Epoxidized soybean oil (ESBO) was surveyed in the 103 samples of cap sealing for bottled foods on the Japanese market. Most of the sealings were made of polyvinyl chloride, while a few were made of polyethylene or acrylic resin. All the sealings contained ESBO in the range of 0.006–42.4%. Sealings for baby food, jam, *etc.* contained higher levels of ESBO, though those for beverages contained lower levels. Sealings in lug caps and press-on twist caps contained higher levels of ESBO, though that in pilfer-proof caps contained lower levels. Some sealings in screw caps and lug caps also contained other plasticizers, for example, di-2-ethylhexyl phthalate and diisononyl phthalate, and their ESBO contents were 1/10 of those in sealings containing only ESBO. In this survey, ESBO was the most common plasticizer in cap sealing resin for bottled foods on the Japanese market.

(Received March 2, 2006)

**Key words:** キャップシーリング cap sealing; 瓶詰食品 bottled food; エポキシ化大豆油 epoxidized soybean oil; 可塑剤 plasticizer; ポリ塩化ビニル polyvinyl chloride; フタル酸ジ(2-エチルヘキシル) di-2-ethylhexyl phthalate

## 緒 言

エポキシ化大豆油 (ESBO) は、大豆油中の不飽和脂肪酸であるオレイン酸およびリノール酸の二重結合を過酸化水素や過酸化酸によりエポキシ化して製造され、プラスチックの可塑剤または安定剤として、ポリ塩化ビニル (PVC) 製のキャップシーリングやラップフィルムを中心に広く使用されている。

Castle らはキャップシーリング、ラップフィルムなど各種プラスチック製品に ESBO が残存することを見だし<sup>1)</sup>、それらが食品に移行することを明らかにした<sup>2),3)</sup>。さらに、1997 年から 2002 年にかけてヨーロッパで瓶詰ベビーフードの調査が行われ、シーリングから移行した高濃度の ESBO がベビーフードから検出された<sup>4)~6)</sup>。一方、わが国ではこれまで瓶詰食品およびキャップシーリング中の ESBO 含有量に関する報告は見られなかった。

そこで、われわれは前報<sup>7)</sup>においてラップフィルムおよびキャップシーリング中の ESBO の分析法を確立して分析を試みたところ、キャップシーリング 10 検体すべてか

ら ESBO が検出された。本研究では、わが国の市販瓶詰食品のキャップシーリング 103 検体について ESBO 含有量を測定するとともに、キャップの種類や材質、共存する可塑剤との関連についても調査したので報告する。

## 実験方法

## 1. 試 料

キャップシーリング: 主に 2004 年に東京都、神奈川県などで購入した瓶詰食品の金属キャップに塗布されたシーリング材 103 検体。キャップを水洗して風乾後、シーリング部分をナイフで削り取り試料とした。

## 2. 試 薬

ESBO: 工業用、ダイセル化学工業(株)製 (エポキシ化体の組成: エポキシ化オレイン酸 40%, エポキシ化リノール酸-1 25%, 同-2 35%)

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

水: MILLI-Q SP (Millipore 社製) による超純水

† 連絡先

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

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) 100 mg をメタノールに溶解して 100 mL とした。

ESBO 誘導体標準溶液: ESBO をジクロロメタンに溶解して 1,000 mg/mL とした。この溶液 1 mL にトリデカン酸メチル溶液を 1 mL 加えた後, 誘導体化法に従って操作した。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 ESBO 誘導体標準溶液とした。

### 3. 装置および器具

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

フーリエ変換赤外分光光度計 (FT-IR): JIR-SPX200 (日本電子(株)製) に固体表面分析装置 DuraScope (Sensir Technolgies 社製) を装着した。

遠心濃縮装置: CVE-100 東京理化工業(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 mm) 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, イオン化エネルギー: 70 eV, キャリヤガス: He 2.0 mL/min (定流量), 注入量: 1 mL, スプリット比: 10:1, 測定モード: SCAN (*m/z* 40~700)

### 5. 試験溶液の調製

#### 1) 抽出

試料は細切してその 50 mg を試験管に採り, アセトン-ヘキサン (3:7) 混液 2 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 2 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。

#### 2) 誘導体化および GC/MS 測定

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どき攪拌しながら 2 時間加温した。室温に戻し, 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 を加えて直ちに約 30 秒間振とうした。2 mol/L 塩化ナトリウム溶液 1 mL を加えて約 30 秒間振とう後, 上層を採り試験溶液とした。この試験溶液または 2~100 倍希釈液を GC/MS/SCAN で測定した。検量線は ESBO 誘導体標準溶液を用いて作成した。

### 6. キャップシーリング中の共存可塑剤の同定

GC/MS のトータルイオンクロマトグラムにおいて, ESBO 以外のピークのマススペクトルをデータベースにより検索した。可塑剤と推定された場合には, 当該可塑剤の

標準溶液を測定し, 保持時間およびマススペクトルが一致することにより確認した。

### 7. キャップシーリングの材質判別

#### 1) バイルシュタイン反応

銅線の先端を酸化炎で炎に緑色がなくなるまで熱した後, 試料と接触させて再び酸化炎中に入れ, 炎色を観察した。緑色を生じた場合には塩素を含有すると判断した。

#### 2) FT-IR

試料片をアセトン-ヘキサン (3:7) 混液に一晩浸漬した後, 室温で乾燥させて FT-IR の全反射吸収測定法により測定した。得られた赤外吸収スペクトルを標準スペクトルと比較して材質を判別した。

### 実験結果および考察

#### 1. キャップの形状およびシーリングの材質

わが国の市場に流通する瓶詰食品 103 検体を収集し, それらの金属キャップおよび塗布されたシーリングについて調査を行った。そのうち, 内容食品別のキャップの形状, シーリングの材質および ESBO 含有量を Table 1 に示した。

今回収集したキャップはその形状から下記の 4 種類に分類された。スクリューキャップはガラス瓶口のネジに合わせてキャップにネジが成形されており, 佃煮, 塩辛, マヨネーズ, ピーナッツバターなど 26 検体で使用されていた。ラグキャップはキャップにネジではなく数個の突起があり, 瓶口のネジとかみ合せて密封される。ジャム, ベビーフード, しば漬, 鮭フレック, パスタソースなど 52 検体で使用され, 今回の調査では最も多かった。また, プレスオンツイスト (PT) キャップは, キャップ側面に塗布されたシーリング材に瓶のネジが食い込んで密着性を高める構造で真空確認ボタンが付いており, ベビーフードおよびレバーペーストの 21 検体であった。一方, ピルファープルーフ (PP) キャップは材質がアルミニウムで開栓によりミシン目が破断して開栓の証拠が残るもので, 小型の飲料 4 検体に使用されていた。

バイルシュタイン反応および赤外吸収スペクトルによりシーリングの材質判別を行ったところ, 103 検体中 100 検体 (97%) が PVC であった。また, PP キャップの 2 検体がポリエチレン (PE), スクリューキャップの 1 検体がアクリル樹脂であった。このようにシーリングの材質はキャップの形状や内容食品にかかわらず, 大部分が PVC であった。

#### 2. シーリング中の ESBO 含有量

ESBO は前報<sup>7)</sup>と同様にすべてのシーリングから検出されたが, その含有量は 0.006~42.4% と試料により約 1 万倍もの差が見られた。シーリングの材質別では, PE およびアクリル樹脂製は 0.006~0.148% と低かったが, PVC 製は 0.045~42.4% と広い幅があった。

内容食品別に比較すると, ベビーフード, ジャムおよびパスタソースのシーリングでは大部分が 20~40% と高い

Table 1. Food Type, Cap Shape, Sealing Resin and ESBO Content in Cap Sealing for Bottled Foods

Food type	Cap shape <sup>a)</sup>	Sealing resin	Number of samples	ESBO content (%)		
				Minimum	Maximum	Mean ± SD
Baby food	PT	PVC	19	21.0	29.3	24.8 ± 2.1
	Lug	PVC	6	31.5	35.5	33.8 ± 1.6
Jam	Lug	PVC	23	3.80	42.4	30.8 ± 11.7
	Screw	PVC	1	—	—	1.10
Tsukudani <sup>b)</sup>	Screw	PVC	8	0.089	15.1	2.36 ± 5.16
	Lug	PVC	4	31.9	37.5	34.7 ± 2.5
Fish products	Lug	PVC	6	0.659	38.0	27.1 ± 13.4
	Screw	PVC	5	0.045	30.9	18.2 ± 12.9
Vegetable products	Lug	PVC	6	1.88	36.3	28.3 ± 13.1
Meat products	PT	PVC	2	18.7	24.2	21.5
Pasta sauce	Lug	PVC	4	26.5	37.6	32.7 ± 4.6
Seasoning <sup>c)</sup>	Screw	PVC	3	0.519	14.2	5.33 ± 7.68
	Lug	PVC	2	0.438	27.0	13.7
Mayonnaise	Screw	PVC	3	13.1	19.5	17.2 ± 3.6
Bread spread <sup>d)</sup>	Screw	PVC	5	0.095	0.685	0.364 ± 0.252
	Lug	PVC	1	—	—	35.6
	Screw	Acrylic resin	1	—	—	0.148
Beverage	PP	PVC	2	8.37	9.22	8.80
	PP	PE	2	0.006	0.012	0.009
Total			103	0.006	42.4	22.1

<sup>a)</sup> Lug: lug cap, PT: press-on twist cap, Screw: screw cap, PP: pilfer-proof cap

<sup>b)</sup> Tsukudani: seafood or mushroom boiled in soy sauce

<sup>c)</sup> Seasoning: soup base, spicy oil, fermented soybean and red pepper paste, grated garlic, etc.

<sup>d)</sup> Bread spread: peanut butter, black sesame cream and honey

Table 2. Cap Shape, ESBO Content and Other Plasticizers in Cap Sealing for Bottled Foods

Cap shape	Sample number	ESBO content (%)			Other plasticizers
		Minimum	Maximum	Mean ± SD	
Lug cap	46	26.5	42.4	34.2 ± 3.5	—
	6	0.438	4.56	2.55 ± 1.79	DEHP, DINP, DIDP
Press-on twist (PT) cap	21	18.7	29.3	24.5 ± 2.4	—
Screw cap	10	5.30	30.9	16.0 ± 10.2	—
	16	0.045	13.1	1.33 ± 3.17	DEHP, DIDA, ATBC
Pilfer-proof (PP) cap	4	0.006	9.22	0.88 ± 0.06	—

DEHP: di-2-ethylhexyl phthalate, DINP: diisononyl phthalate, DIDP: diisodecyl phthalate, DIDA: diisodecyl adipate,

ATBC: O-acetyl tributyl citrate

—: not detected

含有量を示し、調味料、ピーナッツバターなどのパン塗布物および飲料ではほぼ 20% 以下と低かった。

また、キャップの形状で比較すると、PT キャップはすべて ESBO 含有量が 18.7% 以上と高く、PP キャップは 10% 以下と低かった。一方、ラグキャップではその多くが 20~40% と高かったが、一部に 1% 未満のものも見られた。また、スクリューキャップでは 0.045~30.9% とばらつきが大きかった。

### 3. 共存可塑剤

スクリューキャップやラグキャップにおける ESBO 含有量のばらつきの原因を検討したところ、キャップの形状および共存可塑剤の有無により分類すると ESBO 含有量の分布に一定の傾向が見られることが判明した (Table 2)。可塑剤が ESBO のみの試料について ESBO 含有量を比較すると、ラグキャップが平均 34.2% と最も高く、次いで

PT キャップが 24.5%、スクリューキャップが 16.0% であり、PP キャップでは 0.88% と低かった。一方、ESBO 以外の可塑剤が検出されたラグキャップ 6 検体およびスクリューキャップ 16 検体の ESBO 含有量は、平均 2.55 および 1.33% といずれも低く、ESBO のみの試料の 1/10 以下であった。

ESBO のみが検出されたラグキャップおよびスクリューキャップでは、ESBO が主可塑剤として高濃度に添加されているのに対し、他の可塑剤が共存する場合にはそれらが主可塑剤であり、ESBO は安定剤を兼ねた副可塑剤として比較的少量添加されたものと推定された。

以上のように、キャップシーリング中の ESBO 含有量はキャップ形状によっても差が見られるが、それに共存する可塑剤の有無により大きく異なることが判明した。

共存可塑剤としては、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)

(DEHP)が19検体で最も多く、そのほかにフタル酸ジイソデシル (DIDP), フタル酸ジイソノニル (DINP), アジピン酸ジイソデシル (DIDA), クエン酸アセチルトリブチル (ATBC)が確認された。そのうち、国内品の16検体はすべてDEHPを主可塑剤として使用していたが、いずれも油脂などを含有しない食品であった。

平山(加藤)ら<sup>8),9)</sup>は、瓶詰食品のキャップシーリング中の可塑剤が1970年代にはフタル酸ジブチル (DBP)およびDEHPであったが、1990年代後半には82検体中23検体がDIDP, 18検体がDEHP, 3検体がDINP, 2検体がDEHA, 5検体がジアセチルラウロイルグリセロール (DALG)となり、過半数がフタル酸エステル系可塑剤であるものの、内分泌かく乱などの問題により他の可塑剤に代替されてきたことを報告している。

今回の調査の結果、わが国で流通する瓶詰食品のキャップシーリングの約80%がESBOを主可塑剤としており、フタル酸エステル系可塑剤が主可塑剤のものは約20% (21検体)であった。食品衛生法において2003年から油脂および脂肪性食品へのDEHPの使用が禁止されたことから、シーリングの主可塑剤がフタル酸エステル類からESBOに代替されてきたことが示された。

## 結 論

わが国の瓶詰食品の金属キャップ103検体について、形状、塗布されたシーリングの材質、ESBO含有量、共存可塑剤などを調査した。シーリングの材質は97%がポリ塩化ビニルであり、ごく一部がポリエチレンおよびアクリル樹脂であった。ESBOはシーリングの全検体から0.006~42.4%の含有量で検出され、ベビーフード、ジャムなどでは高く、飲料などでは低かった。また、ラグキャップやプレスオンツイストキャップでは高く、ピルファーフーフキャップでは低く、スクリュウキャップではばらつきが大きかった。スクリュウキャップおよびラグキャップの一部からはDEHP, DIDPなどの可塑剤が高濃度に検出され、これらのシーリングのESBO含有量の平均は、その他の可塑剤を含まないものの1/10以下と低かった。今回の調査により、わが国で流通するキャップシーリングの大部分がESBOを含有しており、80%が主可塑剤であることが判明した。

## 謝 辞

本研究の一部は平成16年度厚生労働科学研究費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」により実施した。

## 文 献

- 1) Castle, L., Sharman, M., Gilbert, J., Analysis of the epoxidised soya bean oil additive in plastics by gas chromatography. *J. Chromatogr.*, **437**, 274-280 (1988).
- 2) Castle, L., Sharman, M., Gilbert, J., Gas chromatographic-mass spectrometric determination of epoxidized soybean oil contamination of food by migration from plastic packaging. *J. Assoc. Offic. Analyt. Chem.*, **71**, 1,183-1,186 (1988).
- 3) Castle, L., Mayo, A., Gilbert, J., Migration of epoxidised soya bean oil into foods from retail packaging materials and from plasticized PVC film used in the home. *Food Addit. Contam.*, **7**, 29-36 (1990).
- 4) Hammarling, L., Gustavsson, H., Svensson, K., Karlsson, S., Oskarsson, A., Migration of epoxidized soya bean oil from plasticized PVC gaskets into baby food. *Food Addit. Contam.*, **15**, 203-208 (1998).
- 5) Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (MAFF), Survey of epoxidised soya bean oil (ESBO) migration from plasticised gaskets. *Food Surveillance Information Sheet*, p. 186 (1999).
- 6) Fantoni, L., Simoneau, C., European survey of contamination of homogenized baby food by epoxidized soybean oil migration from plasticized PVC gaskets. *Food Addit. Contam.*, **20**, 1,087-1,096 (2003).
- 7) Kanno, S., Kawamura, Y., Mutsuga, M., Tanamoto, K., Determination of epoxidized soybean oil and linseed oil in rapping film and cap sealing. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **47**, 89-94 (2006).
- 8) Kato, K., Kawana, K., Nakaoka, S., Wada, Y., Studies on phthalate esters DBP and DOP. *Bull. Kanagawa P. H. Lab.*, **4**, 41-44 (1974).
- 9) Hirayama, K., Tanaka, H., Kawana, K., Tani, T., Nakazawa, H., Analysis of plasticizers in cap-sealing resins for bottled foods. *Food Addit. Contam.*, **18**, 357-362 (2001).

## 報 文

## 瓶詰食品中のエポキシ化大豆油の分析

(平成 18 年 3 月 2 日受理)

河村 葉子\*<sup>†</sup> 菅野 慎二\* 六鹿 元雄\* 棚元 憲一\*

## Determination of Epoxidized Soybean Oil in Bottled Foods

Yoko KAWAMURA<sup>†</sup>, Shinji KANNO, Motoh MUTSUGA and Kenichi TANAMOTO(National Institute of Health Sciences: 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; <sup>†</sup> Corresponding author)

A determination method for epoxidized soybean oil (ESBO) in bottled foods was developed and used to survey bottled foods on the Japanese market. The amount of sample required was decreased to 20 g and the standard addition method was adopted for the quantification, because lipid in foods interrupted the hydrolysis of ESBO. The recoveries were 87.1 and 98.9% and the determination limit was 5.0  $\mu\text{g/g}$  for a 20 g sample, because lipid in foods interrupted the hydrolysis of ESBO. The recoveries using the internal standard method varied widely, because hydrolysis of the internal standard, *cis*-11,14-eicosadienoic acid ethyl ester, was affected more than that of ESBO by coexisting lipid in the sample. ESBO was not detected in any of the bottled baby food samples examined (14 samples), though it had been frequently detected in previous European surveys. This difference may be related to the low fat content and low fluidity of the bottled baby foods retailed in Japan. On the other hand, ESBO was detected at levels of 25.7–494.0  $\mu\text{g/g}$  in liver paste, pasta sauce, Sungan in spicy oil, and spicy oil. These foods had higher fat content and higher fluidity. However, ESBO intake from these foods appears unlikely to exceed the TDI in the EU (1 mg/kg bw/day).

(Received March 2, 2006)

**Key words:** 瓶詰食品 bottled food; エポキシ化大豆油 epoxidized soybean oil; 可塑剤 plasticizer; 安定剤 stabilizer; ポリ塩化ビニル polyvinyl chloride; キャップシーリング cap sealing; ベビーフード baby food; 標準添加法 standard addition method

## 緒 言

エポキシ化大豆油 (ESBO) は、大豆油中の主な不飽和脂肪酸であるオレイン酸およびリノール酸の二重結合を過酸化水素や過酸化酸によりエポキシ化したもので、プラスチックの可塑剤または安定剤として、ポリ塩化ビニル (PVC) 製のキャップシーリングやラップフィルムを中心に広く使用されている。

Castle らはキャップシーリング、ラップフィルムなど各種プラスチック製品に ESBO が残存することを見だし<sup>1)</sup>、それらが食品に移行することを明らかにした<sup>2), 3)</sup>。さらに、1997 年から 2002 年にかけてヨーロッパで瓶詰ベビーフード中の ESBO に関する調査が行われ、シーリングから移行した高濃度の ESBO がベビーフードから検出された<sup>4)~6)</sup>。Fantoni らの報告<sup>6)</sup>によれば、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、その濃度は 1.5~135.2 mg/kg であった。これらの約

15% は 30 mg/kg 以上含有しており、約 4% は欧州連合 (EU) の総移行量試験の限度値である 60 mg/kg を超えていた。

ESBO の毒性については、1995 年から欧州委員会の食品科学委員会 (SCF) で安全性評価が行われ、ラットの 2 年間反復投与試験の肝臓および腎臓の重量増加に対する最大無毒性量 140 mg/kg 体重/日をもとに、暫定耐容一日摂取量 (PTDI) 1 mg/kg 体重/日が設定され<sup>7)</sup>、1999 年に正式な TDI とされた。2004 年には、食品添加物・香料・加工補助剤・食品接触物科学パネル (AFC) がベビーフードの調査結果をまとめ、乳幼児は体重当たりの暴露量が多く、しかも暴露頻度が高いため、6~12 か月児では TDI の 4~5 倍以上になる可能性がある<sup>8)</sup>と結論し、ESBO の溶出基準値を設定するように勧告した<sup>8)</sup>。

著者らはこれまでに、ラップフィルムおよびキャップシーリング中の ESBO の分析法を確立し<sup>9)</sup>、市販瓶詰食品のキャップシーリング 103 検体のすべてから ESBO を検出し、その多くが 20% 以上の高い含有量であることを報告した<sup>10)</sup>。

<sup>†</sup> 連絡先

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

そこで本研究では、食品中のESBOについて分析法を検討するとともに、ベビーフードなどの瓶詰食品中のESBO含有量の調査を行ったので報告する。

## 実験方法

### 1. 試料

瓶詰食品：ポリ塩化ビニル製シーリングが塗布された金属キャップで密封されたガラス瓶詰食品20検体（ベビーフード14検体，レバーペースト2検体，マヨネーズ， pastaソース，ラー油漬けメンマ，ラー油各1検体）

レトルトベビーフード：レトルトパウチ入りベビーフード2検体（No. 1チキンと野菜のドリア，No. 2鯛と野菜の和風あんかけ）

これらは2004～2005年に東京都内および神奈川県内で購入した。

### 2. 試薬

ESBO：工業用，ダイセル化学工業(株)製（エポキシ化体の組成：エポキシ化オレイン酸40%，エポキシ化リノール酸-1 25%，同-2 35%）

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，11,14-ジエポキシエイコサン酸エチル(cis-11,14-eicosadienoic acid ethyl ester)：純度98%以上Sigma-Aldrich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）100 mgをメタノールに溶解して100 mLとした。

ESBO標準溶液：ESBOをジクロロメタンに溶解して10 mg/mL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)：GC 6890 Series PLUS, MS 5973 以上Agilent社製

ホモジナイザー：POLYTRON, Kinematica AG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-5ms（長さ15 m, 内径0.25 mm, 膜厚0.1  $\mu\text{m}$ ）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，イオン化エネルギー：70 eV，キャリアーガス：He 2.0 mL/min（定流量），注入量：1  $\mu\text{L}$ ，スプリット比：10:1，測定モード：SIM，定量用および確認用フラグメントイオン： $m/z$  367 および 55（エポキシ化オレイン酸）， $m/z$  309 および 277（エポキシ化リノール酸）

## 5. 試験溶液の調製

### 1) 抽出

試料は全量をホモジナイザーにより均一化した。ただし，ラー油漬メンマはメンマのみを試料とした。その20 gをビーカーに採り，アセトン-ヘキサン(1:1)混液100 mLを加えてホモジナイザーでかくはんした。上清を採り残さにアセトン-ヘキサン(1:1)混液100 mLを加えて再度かくはんし，上清を合わせて無水硫酸ナトリウム約50 gを加えた。ろ紙ろ過を行ってろ液を重量既知のナスフラスコに採り，ロータリーエバポレーターで溶媒を留去して残さの重量を測定した。なお，残さが0.7 g以上になる場合は，その一部を採って誘導体化を行うか，またはあらかじめ脂質含量などをもとに残さが0.7 g以下になるように試料採取量を減じた。

### 2) 誘導体化およびGC/MS測定

残さにナトリウムメトキシド溶液8 mL，無水硫酸ナトリウム約2 gを加えて混和し，密栓後60°Cの恒温チャンバー内で時どきかくはんしながら2時間加温した。溶媒を除去後，2,2,4-トリメチルペンタン5 mL，シクロペンタノン3 mL，三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体0.5 mLを加えて直ちに約30秒間振とうした。2 mol/L塩化ナトリウム溶液10 mLを加えて約30秒間振とう後，上層を試験溶液としてGC/MS/SIMで測定し，エポキシ化リノール酸の2本のピークの有無を調べた。

### 3) 標準添加法

上記においてエポキシ化リノール酸が検出された場合には，標準添加法により定量を行った。4個のビーカーごとに1)と同量の試料を採り，抽出法に従って操作を行った。ただし，上記においてESBO含有量が極めて高いと判断された場合には，試料中のESBO量がおよそ600  $\mu\text{g}$ 以下になるように試料採取量を減じた。得られた残さのうち2個にジクロロメタン60  $\mu\text{L}$ ，1個にESBO標準溶液およびジクロロメタン各30  $\mu\text{L}$ ，1個にESBO標準溶液60  $\mu\text{L}$ を添加し2)の誘導体化を行った。ESBO添加量とGC/MS/SIMで得られたエポキシ化リノール酸の各ピーク面積を用いて作図し，X軸の切片から試料中のESBO量を求めた。2本のピークから得られたESBO量がほぼ一致することを確認し，その平均値をESBO含有量とした。

### 6. 添加回収試験

ESBOを含有しないレトルトベビーフード2検体各20 gにESBO標準溶液30  $\mu\text{L}$  (15  $\mu\text{g/g}$ 相当)を添加した。同時に内標準の11,14-ジエポキシエイコサン酸エチル500  $\mu\text{g}$ を添加して試験操作を行い，標準添加法と内標準法の両方で定量を行った。内標準法の検量線は試料残さにESBO標準溶液と内標準を添加し誘導体化したものをを用いた。

## 実験結果および考察

### 1. 食品中のESBO分析法の検討

GC/MSの測定条件はキャップシーリングと同様とし，

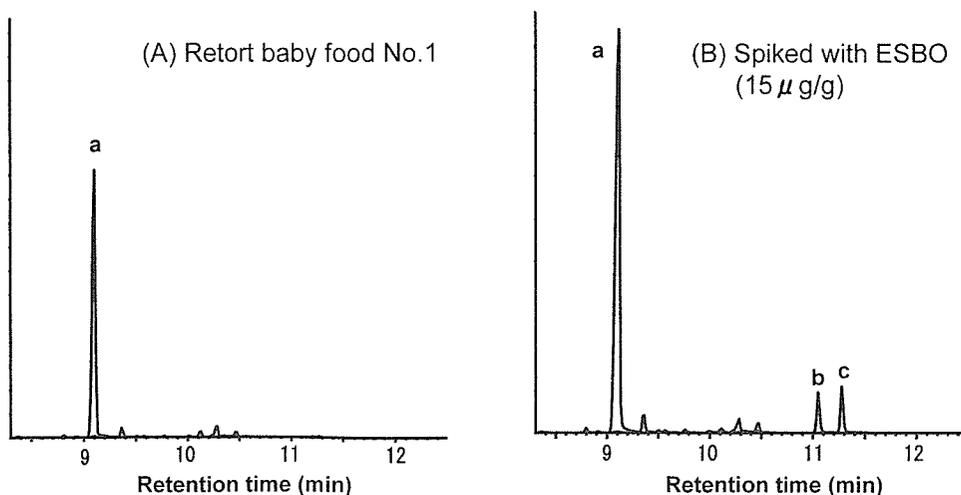


Fig. 1. GC/MS chromatograms ( $m/z$  309+367) of retort baby food and the spiked with ESBO

- a: derivative of epoxyoleic acid  
 b: derivative of diepoxylinoleic acid isomer-1  
 c: derivative of diepoxylinoleic acid isomer-2

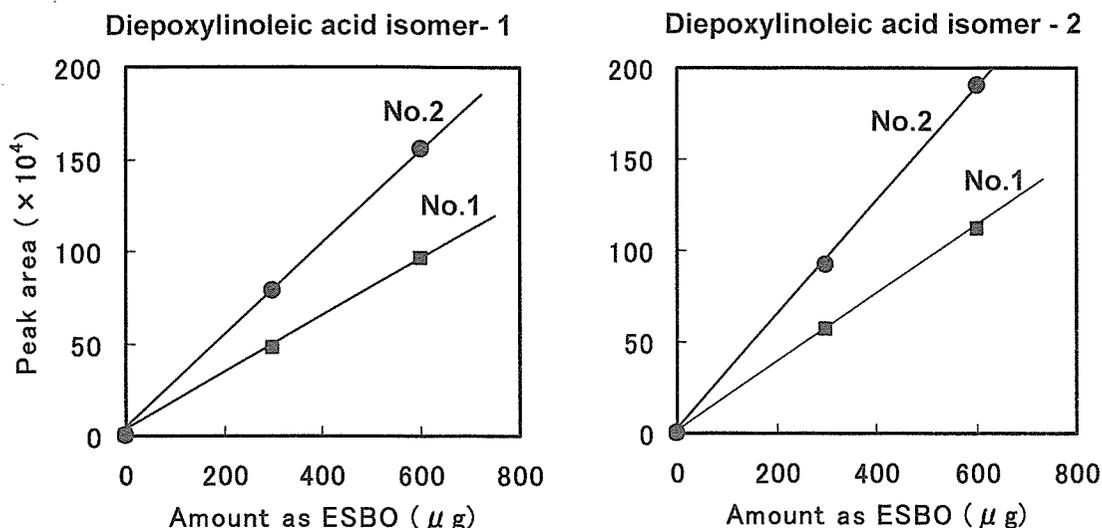


Fig. 2. Peak area of diepoxylinoleic acid isomer 1 and 2 spiked in residue of retort baby food No. 1 and No. 2  
 Indicated fat content: No. 1—3.3%, No. 2—0%.

SIMモードで測定した<sup>9)</sup>。一方、試験溶液の調製法は、EUにおける調査<sup>4)~6)</sup>と同様にCastleらの方法<sup>2)</sup>、すなわち試料30gに内標準として11,14-ジエポキシエイコサン酸エチルを添加し、溶媒抽出後アルカリ分解およびメチル化し、さらにジオキソラン誘導体としてGC/MSで測定する方法を検討することとした。そこで、ESBOを含有しないレトルトベビーフード（表示脂質含有量No. 1: 3.3%, No. 2: 0%）にESBOを添加し、この方法に従って測定を試みた。

無添加試料において、エポキシ化オレイン酸が高濃度に検出された (Fig. 1)。このエポキシ化オレイン酸は、ESBO由来ではなく食品の加熱などによりオレイン酸がエポキシ化したものと推測されている<sup>4), 6)</sup>。一方、エポキシ化リノール酸は全く検出されなかった。そのため、食品中のESBOの定量にはエポキシ化オレイン酸のピークは使用せず、エポキシ化リノール酸の2本のピークを分析の

指標とすることとした。

また、試料No.1を30g採取すると、残存量はほぼ1gでCastleらの指示（残存量1g以下）に合致していたが、メチル化反応後の溶液が2層に分離し、検出されたピークも小さくばらついた。しかも、内標準として添加した11,14-ジエポキシエイコサン酸エチルの一部が、メチル化されずにエチル体のままジオキソラン化されているのが確認された。これらのことから、残存量が1g以下であってもESBOのエステル分解が阻害されたものと推定された。そこで、試料量を30gから20gに変更したところ、反応液の分離は起こらず、ばらつきも小さくなり、ピーク強度も改善された。しかし、標準品やNo. 2と比較するとNo. 1のピーク強度はやや低かった。

そこで、抽出残さにESBO標準溶液を添加して誘導体化を行い、抽出と誘導体化のいずれに原因があるかを調べたところ、No. 1のエポキシ化リノール酸のピーク強度は

**Table 1.** Recoveries of ESBO from Spiked Retort Baby Foods Determined by the Standard Addition Method and Internal Standard Method

Sample	Indicated fat content (%)	Determination limit ( $\mu\text{g/g}$ )	Recovery	
			Standard addition method	Internal standard method
Retort baby food 1	3.3	5.0	87.1 $\pm$ 7.8	111.2 $\pm$ 12.3
2	0	5.0	98.9 $\pm$ 2.3	95.5 $\pm$ 5.9

Samples (20 g) were spiked with 15  $\mu\text{g/g}$  of ESBO.  
Each value is the mean $\pm$ SD of 3 trials.

**Table 2.** Food Species, Fat Content, Cap Shape and ESBO Contents in Cap Sealing and Bottled Foods in Japan

Food (Company)	Indicated fat content (%)	Cap shape	ESBO content	
			Cap sealing (%)	Food ( $\mu\text{g/g}$ )
Baby food 1 (A)	0.1	PT	21.0	<5.0
2 (A)	1.3	PT	26.9	<5.0
3 (A)	2.9	PT	24.3	<5.0
4 (A)	1.7	PT	25.4	<5.0
5 (A)	2.0	PT	25.3	<5.0
6 (B)	0.2	PT	29.3	<5.0
7 (B)	0.2	PT	28.4	<5.0
8 (B)	0.3	PT	23.1	<5.0
9 (B)	1.4	PT	23.2	<5.0
10 (C)	—	Lug	35.0	<5.0
11 (C)	—	Lug	35.5	<5.0
12 (C)	—	Lug	31.5	<5.0
13 (C)	—	Lug	32.4	<5.0
14 (C)	—	Lug	33.6	<5.0
Liver paste 1	13.0	PT	18.7	25.7
Liver paste 2	9.5	PT	24.2	<12.5
Mayonnaise	76.9	Screw	13.1	<50.0
Pasta sauce	7.2	Lug	32.8	59.3
Sungan in spicy oil	17.1	Lug	30.6	67.4
Spicy oil	—	Lug	27.0	494.0

Lug: lug cap, PT: press on twist cap, Screw: screw cap  
—: no indication

No. 2 の約 60% であり、誘導体化においてまだ阻害を受けていることが示された。しかし、Fig. 2 に示すように、ESBO の添加濃度に対して良好な直線性があり、しかも再現性も良好であった。そのため、食品中の ESBO の定量は、食品の影響を加味した標準添加法が適当と考えられた。

## 2. 添加回収試験

そこで、添加回収試験として、レトルトベビーフード 2 種類各 20 g に ESBO を 15  $\mu\text{g/g}$  添加し、標準添加法および Castle らの内標準法<sup>2)</sup>により定量を行い両者を比較した。

Table 1 に示すように、試料 No. 2 の回収率は標準添加法 98.9%、内標準法 95.5% といずれも良好であった。しかし、試料 No. 1 では前者は 87.1%、後者は 111.2% であり、また後者のほうが標準偏差が大きかった。その原因を検討したところ、No. 1 の内標準ピークは、No. 2 よりもやや小さくしかもばらつきが大きかった。後述の市販瓶詰食品の分析においても内標準ピークは変動を示し、クロマトグラム上にメチル化されていない内標準が認められる場合もあった。以上のことから、内標準の 11,14-ジエポキ

シエイコサン酸エチルは ESBO よりも食品残さによる妨害を受けやすく、内標準としては必ずしも適当ではないと判断された。

また、内標準法では、検量線に ESBO を含有しない類似食品を使用することとなっているが、それらを購入することは困難な場合が多い。今回の添加回収試験では、ESBO を含有しない試料に添加したため同一食品を検量線作成に使用できたが、類似食品であっても同一でなければ反応阻害率に差が生じると考えられる。

以上のことから、内標準法よりも標準添加法の方が定量精度が高く、しかも実用的であると判断した。

本法における定量限界は、試験溶液当たり 100  $\mu\text{g}$ 、試料 20 g の場合は試料当たり 5.0  $\mu\text{g/g}$  であった。

## 3. 市販瓶詰ベビーフード中の ESBO 含有量

我が国の瓶詰キャップシーリングの多くが ESBO を主可塑剤として使用していたことから<sup>9)</sup>、EU で問題となったベビーフードについて ESBO 含有量を調査した。Table 2 に瓶詰食品の種類、脂質含有量、キャップの種類、キャップシーリング中の ESBO 含有量 (前報<sup>9)</sup>における測定値) および食品中の ESBO 含有量を示した。

試料として A 社製 5 検体, B 社製 4 検体および C 社製 5 検体を用いた。このうち, A および B 社製はすべて PT キャップでシーリング中の ESBO 含有量は 21.0~29.3% であった。一方, C 社製はラグキャップで ESBO 含有量は 31.5~35.5% とやや高かった。しかし, 食品中の分析を行ったところ, いずれのベビーフードからも ESBO は検出されなかった。

EU のベビーフードの調査<sup>4)~6)</sup>では ESBO が約 1/3 の試料から最高 135.2  $\mu\text{g/g}$  検出されており, 今回のわが国の調査とは異なる結果となっている。その理由として, 1 つにはベビーフードの脂質含有量の差異が挙げられる。EU の調査<sup>5), 6)</sup>では脂質含有量は 0.1~5.8% であり, 脂質含有量と ESBO 移行量に相関が見られている。一方, わが国の瓶詰ベビーフードの脂質含有量は 0.1~2.9% であり, EU と比較してかなり低かった。わが国の食習慣から脂質含有量が低いということもあるが, 脂質含有量が比較的高いベビーフードは瓶詰ではなくレトルト包装で販売されていた。また, 瓶詰ベビーフードは比較的流動性の低いものが多かった。おそらくわが国のベビーフード業界が ESBO の移行に配慮して包装を切り替えたため, ESBO が検出されなかったものと推測された。

#### 4. 市販瓶詰高脂質食品中の ESBO 含有量

次に, ESBO が移行しやすいと考えられる瓶詰高脂質食品について調査を行った。対象としたのは, レバーペースト, パスタソース, マヨネーズ, ラー油漬けメンマおよびラー油である。

Table 2 に示すように, シーリング中の ESBO 含有量は 13.1~32.8% でベビーフードよりもやや低かったが, 内容食品については 4 検体から ESBO が検出され, その含有量は 25.7~494.0  $\mu\text{g/g}$  であった。しかし, これらの ESBO 含有量と食品の脂質含有量, あるいはシーリング中の ESBO 含有量との相関は見られなかった。

パスタソース, ラー油漬けメンマおよびラー油は流動性が高いため, 輸送時などにシーリングと接触して ESBO が移行したと推定された。一方, マヨネーズは脂質含有量が 76.9% と極めて高いが, 粘性が高いため食品とシーリングが接触しにくく, 移行しなかったものと推定された。レバーペーストについては No. 1 のみから検出されており, 食品の粘性は高いが輸送時または保存時に横置きにされるなどの原因で食品がシーリングと接触したのではないかと推測された。

ラー油は 494.0  $\mu\text{g/g}$  と最も高い ESBO 含有量を示した。しかし, 香辛料であり 1 日当たりの摂取量が少ないことから, EU の TDI である 1 mg/kg 体重/日を上回るとは考えられない。またパスタソースについても, 一瓶 290 g の全量を摂取しても 17.4 mg であり, TDI を超えることはない。したがって, 今回調査した食品中の ESBO 含有量は, いずれも安全性の上で問題はないと考えられる。

ただし, EU では現在 ESBO の規制を検討しており, 1

歳未満の乳幼児食品は 30 mg/kg, それ以外は 60 mg/kg の溶出限度値を予定している<sup>\*1</sup>。もしこの規格値に準じるならば 2 製品は不適合ということになる。

#### 結 論

食品中のエポキシ化大豆油の分析法を検討したところ, ESBO のエステル分解が食品由来の脂質により阻害されるため, 試料採取量を 20 g とするとともに, 標準添加法で定量することとした。添加回収率は 87.1 および 98.9% と良好であり, 定量限界は 5.0  $\mu\text{g/g}$  であった。一方, Castle らの内標準法<sup>2)</sup>では内標準の 11,14-ジエポキシエイコサン酸エチルの方が ESBO よりも食品の影響を受けやすく, 測定値のばらつきの原因となっていた。

わが国の市販瓶詰食品について ESBO 含有量の調査を行ったところ, 瓶詰ベビーフードでは 14 検体のいずれからも ESBO は検出されなかった。わが国の瓶詰ベビーフードは脂質含有量が低く流動性が低いため, 移行が起こりにくかったものと推定された。一方, 脂肪性含有量が高い食品 6 検体のうち, レバーペースト, パスタソース, ラー油漬けメンマおよびラー油の 4 検体から 25.7~494.0  $\mu\text{g/g}$  の ESBO が検出され, 脂質含有量が高くしかも流動性のある食品に移行しやすいことが示された。しかし, これらの食品による ESBO 摂取量は, EU の TDI である 1 mg/kg 体重/日を上回ることではなく, 安全性に問題はないと判断された。

#### 謝 辞

本研究の一部は平成 16 年度厚生労働科学研究費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」により実施した。

#### 文 献

- 1) Castle, L., Sharman, M., Gilbert, J., Analysis of the epoxidised soya bean oil additive in plastics by gas chromatography. *J. Chromatogr.*, **437**, 274-280 (1988).
- 2) Castle, L., Sharman, M., Gilbert, J., Gas chromatographic-mass spectrometric determination of epoxidized soybean oil contamination of food by migration from plastic packaging. *J. AOAC*, **71**, 1,183-1,186 (1988).
- 3) 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 Addit. Contam.*, **7**, 29-36 (1990).
- 4) Hammarling, L., Gustavsson, H., Svensson, K., Karlsson, S., Oskarsson, A., Migration of epoxidized soya bean oil from plasticized PVC gaskets into baby food. *Food Addit. Contam.*, **15**, 203-208 (1998).

\*1 Rossi, L., Legislator perspective: An update and response from the European Commission, 22nd International plastics and polymers in contact with foodstuffs (2005).

- 5) Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (MAFF), Survey of epoxidised soya bean oil (ESBO) migration from plasticised gaskets. Food Surveillance Information Sheet, p. 186 (1999).
- 6) Fantoni, L., Simoneau, C., European survey of contamination of homogenized baby food by epoxidized soybean oil migration from plasticized PVC gaskets. Food Addit. Contam., **20**, 1,087-1,096 (2003).
- 7) The Scientific Committee for Food, Compilation of the evaluations of the Scientific Committee for food on certain monomers and additives used in the manufacture of plastic materials intended to come into contact with foodstuffs until 21 March 1997, SCF 42nd Series (1999).
- 8) 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. EFSA J., **64**, 1-17 (2004).
- 9) Kanno, S., Kawamura, Y., Mutsuga, M., Tanamoto, K., Determination of epoxidized soybean oil and linseed oil in rapping film and cap sealing, Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan), **47**, 89-94 (2006).
- 10) Kanno, S., Kawamura, Y., Mutsuga, M., Tanamoto, K., Survey of epoxidized soybean oil in cap sealing attached bottled foods, Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan), **47**, 196-199 (2006).

## Analysis of vinylidene chloride and 1-chlorobutane in foods packaged with polyvinylidene chloride casing films by headspace gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS)

H. OHNO<sup>1</sup> & Y. KAWAMURA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Environmental Health Department, Nagoya City Public Health Research Institute, 1-11, Hagiya-cho, Mizuho-ku, Nagoya 467-8615, Japan and <sup>2</sup>Division of Food Additives, National Institute of Health Sciences, 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

(Received 25 December 2005; revised 7 March 2006; accepted 19 March 2006)

### Abstract

A headspace gas chromatography/mass spectrometry method was developed for the simultaneous determination of vinylidene chloride and 1-chlorobutane in foods packaged with polyvinylidene chloride casing films. The solid foodstuff was homogenized with an equal mass of distilled water. The homogenate was incubated for 1 h at 90°C in a sealed headspace vial, and the headspace gas was then analysed by gas chromatography/mass spectrometry in selected ion-monitoring mode using a bonded porous polymer-coated capillary column. The recovery rates of vinylidene chloride and 1-chlorobutane in foodstuffs were 94.5–103.9 and 85.8–120.3%, respectively. Among 13 samples tested, vinylidene chloride was detected at 0.001–0.020 µg g<sup>-1</sup> in 11 foodstuffs, and 1-chlorobutane was detected at 0.004–0.040 µg g<sup>-1</sup> in all 13 foodstuffs. Furthermore, vinylidene chloride was detected at 0.04 µg g<sup>-1</sup> in one casing film, and 1-chlorobutane was detected in all casing films. The results indicate that these compounds migrated from the casing films into the foodstuffs.

**Keywords:** Vinylidene chloride, 1-chlorobutane, polyvinylidene chloride, casing film, packaged food, headspace gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS)

### Introduction

Polyvinylidene chloride (PVDC) has an extremely low permeability to gas and water vapour. It is suitable for the long-term preservation of food, and is widely used in the food industry and domestic applications for food packaging as a casing and wrapping film. In particular, PVDC casing film is frequently heated to more than 100°C for sterilization with hermetically sealed foods and is used in direct contact with foods for several months during storage. Therefore, residual chemicals such as the monomer, additives and impurities in the film may migrate and remain in foods.

Vinylidene chloride (VDC), also known as 1,1-dichloroethene or 1,1-dichloroethylene, is a volatile toxic monomer used in PVDC polymerization. Several surveys of residual VDC in PVDC films were carried out in the 1970s and in 1980. Among these surveys, VDC was detected at

1.6–26.2 µg g<sup>-1</sup> in various household and industrial films (Birkel et al. 1977; Hollifield and McNeal 1978). Gilbert et al. (1980) also found VDC at 0.005–0.01 µg g<sup>-1</sup> not only in PVDC films, but also in film-packaged foodstuffs such as cooked meat products. The results indicated that VDC migrated from PVDC packaging films into foods. However, it was not detected in PVDC casing films or household wrapping films by Motegi et al. (1976) and Tan and Okada (1979). The UK Food Standard Agency (2003) reported no detection of VDC in PVDC films and foods.

A previous paper by the present authors (Ohno et al. 2005) developed a headspace gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) analytical method for residual vinyl chloride and VDC in polyvinyl chloride and PVDC products. During development, an unknown peak was detected from some PVDC casing films used for sausage products,

Correspondence: H. Ohno. E-mail: ehdeiken@sa.starcat.ne.jp

ISSN 0265-203X print/ISSN 1464-5122 online © 2006 Taylor & Francis  
DOI: 10.1080/02652030600699346

which was identified as 1-chlorobutane (1-CB), as described below in detail. However, no reports have been published on the presence of 1-CB in PVDC films. The purpose of the present study is to investigate whether VDC and 1-CB are present in foods packaged with PVDC casing films, such as sausage, fish sausage, boiled fish paste ('kamaboko' in Japanese) and cheese. VDC and 1-CB were determined simultaneously in 13 foodstuffs by the headspace GC/MS method developed for this purpose. Furthermore, these compounds in the casing films were analysed by modifying the above-described method for vinyl chloride and VDC.

## Materials and methods

### Chemicals and reagents

Vinylidene chloride (VDC, 99%) was purchased from Aldrich Chemical Co., Inc. (Milwaukee, WI, USA). 1-Chlorobutane (1-CB, >98%) and *N,N*-dimethylacetamide (DMA, special grade) were purchased from Wako Pure Chemical Industries, Ltd (Osaka, Japan). 1-Chloropropane (>99%), which was used as an internal standard, was purchased from Tokyo Kasei Kogyo Co., Ltd (Tokyo, Japan).

### Standard solutions and internal standards

Stock solutions of VDC and 1-CB were prepared in DMA at 3000 and 1000  $\mu\text{g ml}^{-1}$ , respectively. Working standard solutions were prepared by diluting different volumes of individual stock solutions with DMA. The concentrations of VDC and 1-CB were 0.6–60 and 1–100  $\mu\text{g ml}^{-1}$ , respectively. Internal standards were prepared in DMA at 100  $\mu\text{g ml}^{-1}$  for foodstuff analysis and at 1000  $\mu\text{g ml}^{-1}$  for film analysis, respectively. All solutions were stored in a freezer at  $-20^\circ\text{C}$ .

### Samples

Thirteen samples packaged with PVDC casing films, such as sausage, fish sausage, boiled fish paste and cheese products, were purchased at supermarkets in Nagoya, Japan in the autumn of 2004. At the same time, sausage, fish sausage and cheese products, packaged with films other than PVDC (polyethylene, polypropylene, nylon and cellophane), were purchased as analyte-free samples. All samples and analyte-free samples were stored in zip-lock plastic bags at  $4^\circ\text{C}$  and analysed before the best before date within 1 month after purchases. Consequently, the samples had been packaged with the casing films for 1–2 months, except the cheese products, until analysis. The cheese products had been packaged for 5–6 months.

### Foodstuff sample preparation

The foodstuffs were removed from the casing films and immediately homogenized for 1 min at 15 700 rpm using a food blender (Oster 16 Speed Blender) with an equal mass of distilled water cooled to  $4^\circ\text{C}$ . The homogenate (5 g) was weighed into a 20-ml headspace vial and the internal standard (25  $\mu\text{l}$  of 100  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) was added for foodstuff analysis at a level equivalent to 1  $\mu\text{g g}^{-1}$  in the foodstuff. The vial was immediately tightly sealed with a silicone rubber septum with polytetrafluoroethylene (PTFE).

### Film sample preparation

The casing films were prepared by modifying the previous method (Ohno et al. 2005) as follows. After removing the contents, the films were washed with tap water and wiped with a soft tissue to remove food residues. A sample (0.5 g) was cut into small pieces (approximately  $0.5 \times 0.5$  cm), then dissolved in DMA (2.5 ml) in a 20-ml headspace vial and the internal standard (25  $\mu\text{l}$  of 1000  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ) was added for film analysis at a level equivalent to 50  $\mu\text{g g}^{-1}$ . The vial was immediately tightly sealed with a silicone rubber septum with PTFE.

### Headspace GC/MS analysis

The vial was incubated for 1 h at  $90^\circ\text{C}$  with occasional shaking, then the headspace gas (0.5 ml) was removed manually using a 1-ml Pressure-Lok gas-tight syringe (Precision Sampling, Baton Rouge, LA, USA) and injected to the GC/MS. For the calibration curves of sausage, fish sausage and cheese, analyte-free samples identical to those to be analysed were homogenized as described above. Standard solutions were spiked in the respective homogenates (5 g) at levels equivalent to 0.0024–0.24  $\mu\text{g g}^{-1}$  for VDC and 0.004–0.4  $\mu\text{g g}^{-1}$  for 1-CB in foodstuffs. The calibration curve of fish sausage was also used for boiled fish paste. For film analysis, standard solutions were spiked in DMA (2.5 ml) at levels equivalent to 0.06–12  $\mu\text{g g}^{-1}$  for VDC and 0.1–20  $\mu\text{g g}^{-1}$  for 1-CB in the film.

GC/MS analysis was performed with a HP 6890 and 5973 GC/MS system (Hewlett Packard, Agilent, Palo Alto, CA, USA). The GC conditions were as follows: column, CP-PoraBOND Q (0.25 mm i.d.  $\times$  25 m, 3  $\mu\text{m}$  thickness) (Varian, Palo Alto, CA, USA); oven temperature,  $80^\circ\text{C}$  (for 1 min) at  $10^\circ\text{C min}^{-1}$  rising to  $250^\circ\text{C}$  (for 10 min); injection temperature,  $200^\circ\text{C}$ ; transfer line temperature,  $250^\circ\text{C}$ ; carrier gas, helium at 57 kPa (constant pressure); injection volume, 0.5 ml (split ratio 10:1). MS conditions were as follows: electron impact ionization mode; ion source temperature,

230°C; ion source voltage, 70 eV. For quantitative analysis, the GC/MS system was operated in selected ion-monitoring (SIM) mode. The monitored ions were  $m/z$  61, 96 and 98 for VDC,  $m/z$  41, 43 and 56 for 1-CB, and  $m/z$  49, 63 and 78 for the internal standard. Calibration curves were constructed by plotting the peak area ratios of VDC ( $m/z$  96) and 1-CB ( $m/z$  56) versus the internal standard ( $m/z$  63), respectively. The limits of quantitation were set at a signal-to-noise ratio of 10:1. The GC/MS system was operated in full-scan mode to identify an unknown peak. In this case, 1 ml of headspace gas was subjected to GC/MS with a split ratio of 5:1 for highly sensitive detection. The mass spectrum referred to the National Institute of Standards and Technology (NIST) database.

## Results and discussion

### Identification of an unknown peak

A major unknown peak was detected from some PVDC casing films for sausage, fish sausage and cheese products at a retention time of 12.1 min by GC/MS in full-scan mode. The total-ion chromatogram obtained for the casing film of sample number 1 (sausage) is shown in Figure 1(A). The mass spectrum (Figure 1B) agreed with 1-CB with a

more than 90% coincidence rate by reference to the NIST database. Accordingly, the 1-CB standard was obtained and analysed by GC/MS in full-scan mode, with the result that its retention time and mass spectrum were the same as the unknown peak. The unknown peak was identified as 1-CB.

### Headspace GC/MS analysis

A CP-PoraBOND Q capillary column was used to analyse residual vinyl chloride and VDC in polyvinyl chloride and PVDC products, as reported by Ohno et al. (2005). This column is a bonded porous polymer-coated capillary column and is suitable for the separation of highly volatile compounds including VDC and 1-CB. Therefore, it was also used for simultaneous analysis of VDC and 1-CB in the present study.

In SIM mode, the ions at  $m/z$  61 and 56 had the highest sensitivity for the trace analysis of VDC and 1-CB, respectively. However, a coexisting compound peak with nearly the same retention time as VDC in several foods interfered with the VDC determination at  $m/z$  61. By using  $m/z$  96, VDC could be determined without interfering with any compounds, while the sensitivity of  $m/z$  96 was a little lower than that of  $m/z$  61.

VDC and 1-CB were quantified using the internal standard method. The mass spectrum

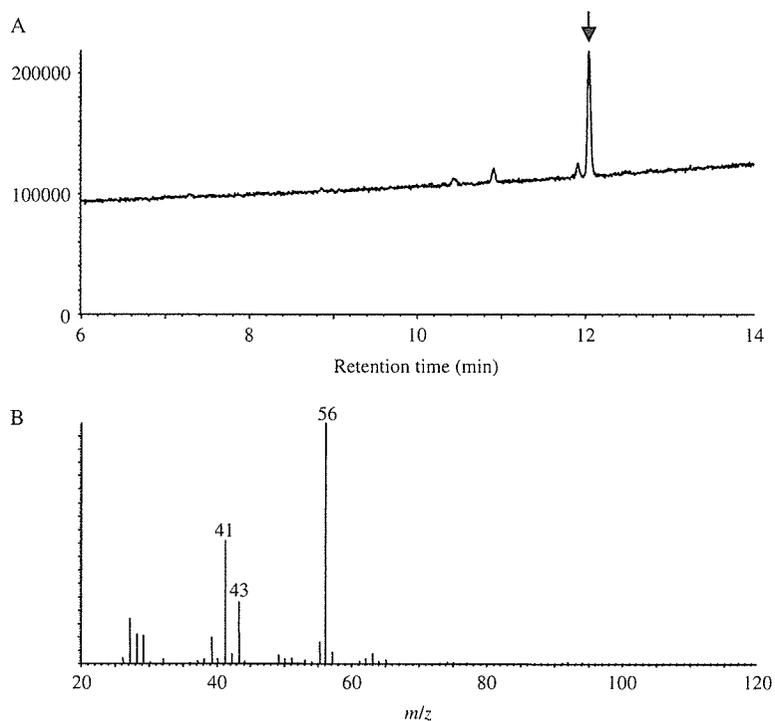


Figure 1. Total-ion chromatogram (A) obtained in full-scan mode for the polyvinylidene chloride (PVDC) casing film of sample No. 1 (sausage) and mass spectrum (B) of an unknown peak.

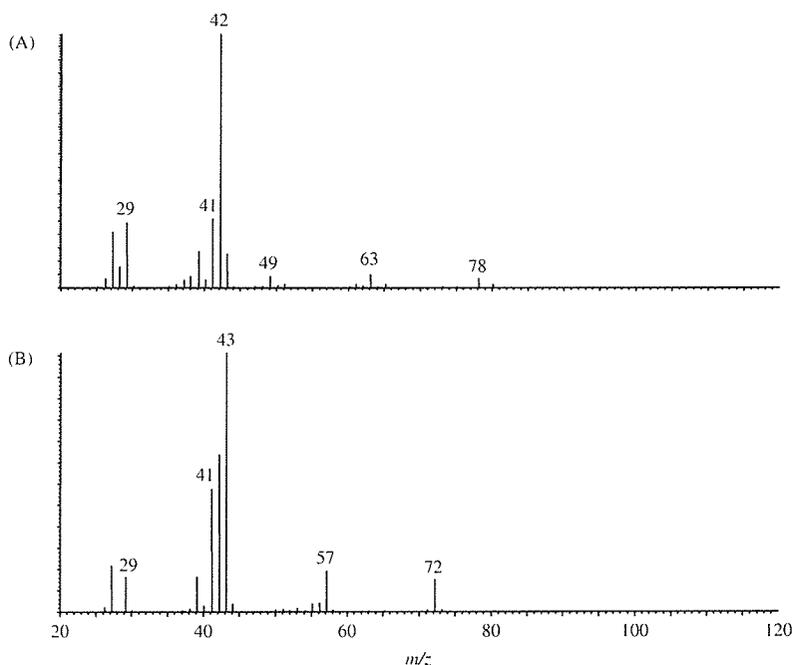


Figure 2. Mass spectra of 1-chloropropane (A) and pentane (B).

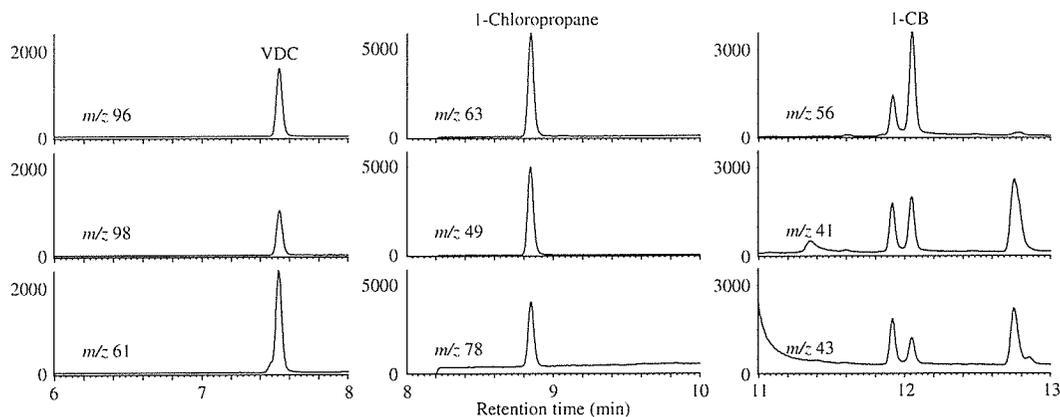


Figure 3. GC/MS chromatograms for the foodstuff of sample No.1 (sausage).

of 1-chloropropane used as an internal standard is shown in Figure 2(A). Initially, three major ions at  $m/z$  29, 41 and 42 were monitored for 1-chloropropane in SIM mode; however, these ions could not be used as monitor ions because of interference by mass ions of pentane (Figure 2(B)) with the same retention time of 1-chloropropane. In addition, pentane was detected in many foodstuff samples in this study. Thus, three ions at  $m/z$  49, 63 and 78 were monitored (quantification ion:  $m/z$  63) for 1-chloropropane and determined successfully without pentane interference, although these were minor

ions. GC/MS chromatograms for sample number 1 (sausage) are shown in Figure 3.

#### Calibration curves and quantitative limits

The respective calibration curves of foodstuffs such as sausage, fish sausage and cheese were linear in the concentration range of 0.001–0.24  $\mu\text{g g}^{-1}$  for VDC and 0.002–0.4  $\mu\text{g g}^{-1}$  for 1-CB. The correlation coefficients were over 0.9993. The quantitative limits were 0.001  $\mu\text{g g}^{-1}$  for VDC and 0.002  $\mu\text{g g}^{-1}$  for 1-CB. On the other hand, the calibration

Table I. Recoveries of VDC and 1-CB in foodstuffs.

Sample number	Product	VDC			1-CB		
		Spiked ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	Recovery* (%)	CV (%)	Spiked ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	Recovery* (%)	CV (%)
1	Sausage	0.012	101.9	3.8	0.02	120.3	2.7
		0.06	99.7	2.0	0.1	112.5	0.8
2	Sausage	0.012	103.9	3.7	0.02	102.2	4.6
4	Fish sausage	0.012	94.5	2.4	0.02	89.4	4.8
		0.06	96.6	3.7	0.1	90.3	4.9
5	Fish sausage	0.012	95.2	0.5	0.02	93.7	1.6
6	Fish sausage	0.012	98.3	2.3	0.02	98.4	1.3
7	Fish sausage	0.012	97.1	6.0	0.02	85.8	5.6
8	Fish sausage	0.012	94.8	5.7	0.02	95.3	2.6
9	Fish sausage	0.06	96.1	1.4	0.1	97.3	2.9
10	Boiled fish paste	0.012	96.5	0.7	0.02	101.3	2.1
		0.06	97.7	2.9	0.1	103.5	1.7
12	Cheese	0.012	97.3	7.4	0.02	97.3	5.9
		0.06	98.4	7.6	0.1	102.9	9.2

\* Average of three trials.

curves of the casing films were linear in the concentration ranges of  $0.03\text{--}12\ \mu\text{g g}^{-1}$  for VDC and  $0.05\text{--}20\ \mu\text{g g}^{-1}$  for 1-CB. The correlation coefficients were 0.9995 for VDC and 0.9992 for 1-CB. The quantitative limits were  $0.03\ \mu\text{g g}^{-1}$  for VDC and  $0.05\ \mu\text{g g}^{-1}$  for 1-CB.

#### Recovery

The recovery test was carried out in three trials for each concentration and performed by spiking VDC and 1-CB in ten sample foodstuffs (numbers 1, 2, 4–10 and 12), as shown in Table I. Both compounds were spiked at levels equivalent to  $0.012$  and  $0.06\ \mu\text{g g}^{-1}$  for VDC and  $0.02$  and  $0.1\ \mu\text{g g}^{-1}$  for 1-CB. The recovery rates were  $94.5\text{--}103.9\%$  for VDC and  $85.8\text{--}120.3\%$  for 1-CB. The coefficients of variation were  $0.5\text{--}7.6\%$  for VDC and  $0.8\text{--}9.2\%$  for 1-CB. A satisfactory recovery was obtained using the proposed method with good precision and reproducibility.

#### Levels of residual VDC and 1-CB

Table II shows the levels of VDC and 1-CB in 13 foodstuff samples. VDC was detected at  $0.001\text{--}0.020\ \mu\text{g g}^{-1}$  in 11 samples and 1-CB at  $0.004\text{--}0.040\ \mu\text{g g}^{-1}$  in all. In casing films, VDC was detected at  $0.04\ \mu\text{g g}^{-1}$  in only one sample (number 1) and 1-CB was detected at about  $0.3\text{--}9.2\ \mu\text{g g}^{-1}$  in all samples. The results suggested that VDC and 1-CB in the casing films migrated into the foodstuffs and remained during storage, while almost all residual VDC in the films was lost due to volatilization during food processing with heat, and a long storage time. Consequently, VDC was detected at a low level in only one sample.

Table II. Contents of residual VDC and 1-CB in samples

Sample No.	Product	VDC* ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	1-CB* ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )
1	Sausage	0.020	0.040
2	Sausage	ND	0.013
3	Sausage	0.003	0.022
4	Fish sausage	0.008	0.022
5	Fish sausage	0.003	0.008
6	Fish sausage	0.003	0.011
7	Fish sausage	ND	0.005
8	Fish sausage	0.011	0.024
9	Fish sausage	0.003	0.005
10	Boiled fish paste	0.001	0.004
11	Boiled fish paste	0.005	0.018
12	Cheese	0.009	0.030
13	Cheese	0.010	0.031

\* Average of three trials.  
ND <  $0.001\ \mu\text{g g}^{-1}$ .

Regarding the 1-CB levels in casing films, there was some doubt about artificial generation. Accordingly, when the PVDC casing films were heated, 1-CB generation was confirmed from the films experimentally. This suggested that 1-CB was generated in the films by heat during the film manufacturing process. However, since it could also occur during the heating process in headspace analysis, the detected levels (about  $0.3\text{--}9.2\ \mu\text{g g}^{-1}$ ) might have been higher than the true levels. A method to obtain accurate 1-CB levels in the casing films has not yet been established. Considering the 1-CB detection from all foodstuffs, it is concluded that 1-CB was generated during the film manufacturing process and migrated into the foodstuffs.

The International Programme on Chemical Safety (2003) set a tolerable daily intake of  $0.05\ \text{mg kg}^{-1}$  body weight for VDC based on the critical effect from oral exposure, minimal hepatocellular mid-zonal fatty