

## <その2> 植物油総溶出物量試験法の改良 植物油抽出が困難な試料における改良試験法変法の検討

研究協力者 河村 葉子 国立医薬品食品衛生研究所

研究協力者 中西 徹、渡邊 雄一 (一財)日本食品分析センター

### A. 研究目的

器具・容器包装からの溶出物の総量を推定するために蒸発残留物試験が用いられる。油脂及び脂肪性食品の最適な食品擬似溶媒はオリブ油などの植物油であるが、蒸発乾固が困難であることから蒸発残留物試験の浸出用液としては使用できない。そのため、公定法ではヘプタンなどの代替溶媒を使用しているが、油脂及び脂肪性食品への溶出物量を正しく反映しているのか疑問がある。

欧州連合では、油脂及び脂肪性食品に用いられる食品接触物質に対する溶出物の総量試験として、オリブ油総溶出物量試験 (Overall migration test into olive oil) を規定しており、その試験法は欧州標準規格 EN 1186-2 Test methods for overall migration into olive oil by total immersion (EN 法)<sup>1)</sup> に記載されている。この試験法は、溶出による試料質量の変化を試料に残存するオリブ油で補正することにより、試料からオリブ油への溶出物量を求める。しかし、操作が極めて煩雑で長時間を要し、試験誤差を生じる要因が多く、しかも有害試薬を使用するなど問題が多い。

そこで、平成 25~26 年度の厚生労働科学研究において、EN 法を基に試料の恒量化、溶出後試料に残存する植物油の抽出法、定量法などの改良を検討した<sup>2),3)</sup>。その結果、EN 法に比べ、有害試薬を用いず、操作が簡便で試験時間が短く、しかも同等の定量値が得られる植物油総溶出物量試験の改良試験法 (改良法) を確立した。さらに、平成 27 年度の厚生労働科学研究において、天然ゴム、ポリエ

チレン、ポリプロピレンの 3 種類の試料を用い 10 機関が参加した改良法の共同試験を実施し、EN 法よりも精度が高く試験法として十分な性能を持つことを検証した<sup>4)</sup>。

これらの検討に使用した試料はフィルムやシート類であり、一般に流通する合成樹脂製品やゴム製品の多くを占めるものであるが、厚手成形品でも同様に試験可能か検証することとした。そこで、これまで行った EN 法によるオリブ油総溶出物量試験において、残存植物油の抽出に極めて長時間を要した直鎖状低密度ポリエチレン (LLDPE) 製の厚手成形品について改良法による抽出を試み、さらに残存植物油抽出条件を検討し、改良法変法についても考察したので報告する。

### B. 研究方法

#### 1. 試料

LLDPE 製厚手成形品 (表面積 40.37 cm<sup>2</sup>、厚さ 約 0.6 ~ 1.5 mm で不均一)

#### 2. 試薬及び試液

95%硫酸、水酸化カリウム、硫酸ナトリウム：試薬特級、小宗化学薬品 (株) 製  
オリブ油：和光純薬工業 (株) 製  
シクロヘキサン、ヘプタン、酢酸：特級、関東化学 (株) 製  
ヘキサン、メタノール：残留農薬試験・PCB 試験用 (5000 倍濃縮) 関東化学 (株) 製  
ペンタン：鹿特級、関東化学 (株) 製  
トリヘプタデカノイン：純度 99% 以上、Sigma-Aldrich 社製

ナトリウムメトキシド溶液：28%ナトリウムメトキシドメタノール溶液、和光純薬工業（株）製

三フッ化ホウ素溶液：14%三フッ化ホウ素メタノール錯体メタノール溶液、和光純薬工業（株）製

43%硫酸：水 547 g に 95%硫酸 453 g を少量ずつ混和して調製した。

内標準溶液：トリヘプタデカノイン 200 mg にシクロヘキサンを加えて溶解し、100 ml に定容した（濃度 2 mg/ml）

水酸化カリウムメタノール溶液：水酸化カリウム 11 g をメタノールに溶解して 1000 ml に定容した（濃度 11 g/L）

飽和硫酸ナトリウム溶液：硫酸ナトリウム 200 g に水 800 ml を加え、約 70 °C で加温溶解後、冷却し上清を用いた。

### 3. 器具及び装置

硫酸デシケーター：シャーレに入れた 43%硫酸を目皿の下に置き、 $20 \pm 1$  °C で平衡状態にしたデシケーター（相対湿度  $50 \pm 2\%$ ）

電子天秤：XS204（最小表示 0.1 mg）、メトラー・トレド（株）製

恒温振とう水槽：T-N22S、トーマス科学器械(株)製

水素炎イオン化検出器付ガスクロマトグラフ（GC-FID）：6890N、Agilent Technologies 社製

## 4. 植物油総溶出物量試験法 - 改良法

### 1) 予試験

溶出を行っていない試料を用いて以下の 5) ~ 7) の操作を行い、ガスクロマトグラム上に植物油の定量を妨げるピークが存在しないことを確認した。今回の試料ではオリーブ油の定量を妨害する試料が存在しなかったことから、植物油としてオリーブ油を使用し定量

用ピークとしてオレイン酸メチルを用いることとした。

### 2) 溶出前の試料質量の測定

表面積を算出した試料の質量を測定したのち、硫酸デシケーター内に静置した。24 時間以上静置したのち試料を取り出し、再度質量を測定した。直前に測定した質量との差が 0.5 mg 以下になるまでこの操作を繰り返し、最後に得られた質量を溶出前の試料質量（ $W_a$  mg）とした。

### 3) 植物油への溶出

試料の表面積 1 cm<sup>2</sup> あたり 2 ml の植物油を所定の温度に加温したのち、試料を浸漬して所定の温度に保ちながら所定の時間浸漬した。試料を取り出し、付着した植物油をろ紙、キムワイプなどで十分に除去したのち、ろ紙などに挟んで重しをかけ数時間放置する操作を植物油の付着がなくなるまで繰り返した。

### 4) 溶出後の試料質量の測定

植物油をできる限り除去した試料は、質量を測定し硫酸デシケーター内に静置した。2) 溶出前の試料質量の測定と同様に操作し、最後に得られた質量を溶出後の試料質量（ $W_b$  mg）とした。

### 5) 試料中の残存植物油の抽出

試料を広口びんに入れ、内標準溶液 10 ml 及びシクロヘキサン 190 ml を加えて密栓した。40 °C の恒温振とう水槽で振とうしながら 2 時間抽出した。

### 6) 植物油のメチルエステル化

抽出液をナスフラスコに移し、ロータリーエバポレーターで濃縮乾固した。残渣にヘプタン 10 ml を加えて溶解し、ナトリウムメトキシド溶液 0.5 ml 及びメタノール 2 ml を加え、室温で 15 分間緩やかに振とうした。これに水 5 ml 及び酢酸 0.5 ml を加えて振とうしたのち、静置した。

## 7) 植物油の定量

ヘプタン層を GC-FID に注入し、得られたガスクロマトグラムから植物油の定量用ピークと内標準ピークの面積を求め、内標準法により検量線から試料中に残存する植物油量 ( $W_c$  mg) を求めた。検量線は植物油 (0 ~ 50 mg) に内標準溶液 10 ml を加え、6) 及び 7) の操作を行い作成した。

### GC-FID 測定条件

カラム : DB-WAX (0.25 mm i.d. × 30 m ,  
膜厚 0.5  $\mu$ m) Agilent Technologies 社製  
カラム温度 : 100 (2 min) , 100 ~ 250  
(20 /min , 昇温) , 250 (5 min)  
注入口温度 : 250  
検出器温度 : 250  
スプリット比 : 1:50  
キャリアガス流量 : ヘリウム 2.0 ml/min  
検出器 : 水素炎イオン化検出器 (FID)

## 5 . 植物油総溶出物量試験法 - EN 法

EN 1186-2 に準じた。試料は 4 . 植物油総溶出物量試験法 (改良法) の 1) ~ 4) と同様に操作して  $W_a$  及び  $W_b$  mg を求めたのち、5) 以降は次の操作を行った。

### 5) 試料中の残存植物油の抽出

試料を細切しソックスレー抽出器に入れ、ナスフラスコに内標準溶液 10 ml 及びペンタン 200 ml を加え所定の時間抽出した。抽出後の試料に新たなペンタン 200 ml を加え 7 時間抽出する操作を植物油が定量限界 (0.05 mg) 未満になるまで繰り返した。

### 6) 植物油のメチルエステル化

抽出液はロータリーエバポレーターで濃縮乾固し、残渣にヘプタン 10 ml を加えて溶解し、水酸化カリウムメタノール溶液 10 ml を加え、冷却管を付けて 10 分間還流した。冷却管の上部から三フッ化ホウ素メタノール溶液 5 ml を加え 2 分間還流した。冷後、飽和硫酸

ナトリウム溶液 20 ml を加えて 5 分間振とうした。これを 50 ml ネスラー管に移して静置し、ヘプタン層を試験溶液とした。

## 7) 植物油の定量

試験溶液は 4 . 7) と同様のガスクロマトグラフィーを行い、定量用ピークと内標準ピークの面積から試料中の残存植物油量 ( $W_c$  mg) を求めた。

## 6 . 残存植物油抽出条件の検討

### 1) 抽出用試料の調製

試料は 4 . 2) に従い溶出前の試料質量 ( $W_a$  mg) を求めた後、4 . 3) に従いオリブ油に 80 で 60 分間浸漬させたのち、試料を取り出し試料表面に付着したオリブ油をろ紙などにより十分に除去した。次に、4 . 4) に従い溶出後の試料質量 ( $W_b$  mg) を求め、溶出前後の質量差 ( $W_b - W_a$ ) を算出した。質量差がほぼ一定の範囲にあるものを抽出用試料とした。

### 2) 改良法による抽出

改良法に従い、抽出用試料に内標準溶液 10 ml 及びシクロヘキサン 190 ml を加えて、40 の恒温振とう水槽で 2 時間振とう抽出を行った。確認のため、抽出後の試料に新たなシクロヘキサン 200 ml を加え、さらに 1 時間の振とう抽出を行った。1 回目の抽出液及び 1 回目と 2 回目の混合抽出液はメチルエステル化を行い試験溶液とした。これをガスクロマトグラフィーで測定し、絶対検量線法及び内標準法によりオリブ油量を定量した。

### 3) 40 における抽出時間の検討

2) で抽出を 2 回行った抽出用試料に、新たなシクロヘキサン 200 ml を加えた 1 時間の振とう抽出をさらに 6 回繰り返した。各抽出液についてメチルエステル化を行い試験溶液を調製した。これらの試験溶液は最初の 2 時間の抽出液 (1 回目) から各回までの試験溶

液を等量ずつ混合した混合試験溶液とし、ガスクロマトグラフィーで測定し、オリブ油量を絶対検量線法及び内標準法により定量した。

#### 4) 抽出温度 70 における抽出時間の検討

抽出用試料に内標準溶液 10 ml 及びシクロヘキサン 190 ml を加え、70 で 2 時間振とう抽出して抽出液を採取した。新たなシクロヘキサン 200 ml を加えた 1 時間振とう抽出を 7 回繰り返した。これらの抽出液についてメチルエステル化を行い試験溶液を調製し、ガスクロマトグラフィーで測定し絶対検量線法によりオリブ油量を定量した。さらに 1 回目から 5 回目までの試験溶液を各回までの累積となるように混合した混合試験溶液とし、ガスクロマトグラフィーで測定し、オリブ油量を内標準法により定量した。次に、抽出用試料 3 検体を用いて、70 で 5 時間抽出した後、新たな溶媒でさらに 1 時間抽出した。1 回目及び 1 回目と 2 回目の混合抽出液中のオリブ油量を絶対検量線法及び内標準法により定量した。

### C. 研究結果及び考察

#### 1. 抽出用試料

これまで EN 法により植物油総溶出物量試験を行った試料のうち、残存植物油の抽出に極めて長時間を要した LLDPE 製厚手成形品を用いて検討を行った。この試料は油性食品

を室温で長期間保存する際に使用される製品であり、溶出試験条件は 60 30 分間または 40 10 日間が適当である。しかし、残存植物油の抽出を検討するには、試料中のオリブ油残存量が多い抽出用試料を調製する必要がある。そこで、オリブ油への溶出条件を 80 60 分間としてオリブ油と接触させ、その後附着したオリブ油を十分に除去したものを抽出用試料とした。

#### 2. EN 法による抽出

抽出用試料 3 検体を用いて、EN 法によりペンタンを抽出溶媒としたソックスレー抽出を行った。以前に試験した同様の LLDPE 製厚手成形品の抽出時間を参考にして、最初に 28 時間（7 時間のソックスレー抽出 4 回分相当）の抽出を行い、その後、7 時間の抽出操作をオリブ油量が定量限界（0.05 mg）未満になるまで繰り返し、各抽出液中のオリブ油量を測定した（表 1）。

オリブ油量は、最初の 28 時間で 19.49 mg、2 回目の 7 時間で 0.08 mg、3 回目の 7 時間で 0.06 mg、4 回目には定量限界未満であった。すなわち、オリブ油の抽出が定量限界未満になることを確認するまで 49 時間のソックスレー抽出が必要であった。また、それまでに抽出されたオリブ油量は合計 19.63 mg であった。

表 1 EN 法によるオリブ油量の測定

検体	オリブ油量 (mg)				合計
	抽出 1 回目 (28 時間)	抽出 2 回目 (7 時間)	抽出 3 回目 (7 時間)	抽出 4 回目 (7 時間)	
A	19.60	0.08	0.06	ND	19.74
B	19.09	0.08	0.06	ND	19.23
C	19.77	0.08	0.06	ND	19.91
平均 ± SD	19.49 ± 0.29	0.08 ± 0.00	0.06 ± 0.00	ND	19.63 ± 0.29

ND : < 0.05 mg

### 3. 改良法による抽出

次に、抽出用試料を用いて改良法による40 2時間のシクロヘキサン浸漬振とう抽出を試みた。確認のため新たなシクロヘキサンによる1時間の抽出を追加した。改良法における抽出量（抽出1回目）並びに抽出1回目と2回目の混合抽出液の抽出量（抽出1+2回目）を表2に示した。

その結果、改良法の抽出条件である40 2時間の抽出1回目の内標準法によるオリブ油量は11.12 mg、抽出1+2回目でも13.08 mgであり、EN法の19.63 mgを大幅に下回った。絶対検量線法で測定しても、抽出1回目は11.42 mg、抽出1+2回目は13.30 mgであり、内標準法とほぼ同じ測定値であった。

すなわち、40 2時間及び3時間の浸漬振とう抽出では、試料であるLLDPE製厚手成形品に残存するオリブ油の抽出が不十分であるだけでなく、オリブ油と内標準もまだ平衡に達していないことが示された。このような場合には、抽出1+2回目でオリブ油量が大きく増加することも確認された。

### 4. 内標準法における合計オリブ油量の測定

改良法において、内標準の添加は測定時の補正ではなく抽出時の補正を目的としており、

内標準溶液は1回目の浸漬抽出を行うときのみ添加される。そのため、1回目の抽出液は内標準を多く含むが、2回目以降の抽出液は内標準量が少ないため測定誤差が大きくなり、正しい定量値を得ることはできない。そのため、3.では1回目と2回目の抽出液を混合して試験溶液を調製し、内標準量が十分な状態でオリブ油量を求めた。しかし、抽出条件の検討のため抽出回数を増加させると、そのたびに抽出液を混合するのでは、操作が煩雑なうえに抽出液が不足する。

そこで、1回目と2回目の抽出液中の合計オリブ油量をそれぞれ絶対検量線法で定量したのちオリブ油量を積算する方法、抽出液を等量混合して試験溶液を調製して測定する方法、抽出1回目と2回目のそれぞれの抽出液から調製した試験溶液を等量混合して測定する方法の3通りで定量を行い、得られた合計オリブ油量を比較した。

表3に示すように、絶対検量線法では3通りの方法で得られた合計オリブ油量は極めて良く一致し、内標準法でも抽出液の混合と試験溶液の混合の測定値は極めて良く一致していた。そこで、抽出回数が多い場合のそれぞれの合計オリブ油量を求めるには、試験溶液を混合したものを定量することとした。

表2 改良法による抽出オリブ油量の測定

定量法	オリブ油量 (mg)	
	抽出1回目	抽出1+2回目
絶対検量線法	11.42	13.30
内標準法	11.12	13.08

表3 抽出1回目及び2回目の合計オリブ油量の測定方法による比較

定量法	各測定値を積算	抽出液を混合	試験溶液を混合
絶対検量線法	13.35	13.30	13.31
内標準法	-	13.08	12.92

単位：mg

表4 40 浸漬振とう抽出における各回数までの合計オリブ油量

定量法	合計オリブ油量 (mg)							
	抽出1回 (2時間)	抽出2回 (3時間)	抽出3回 (4時間)	抽出4回 (5時間)	抽出5回 (6時間)	抽出6回 (7時間)	抽出7回 (8時間)	抽出8回 (9時間)
絶対検量線法	11.42	13.31	14.48	15.77	16.81	17.29	18.04	18.37
内標準法	11.12	12.92	14.44	15.48	16.36	17.19	17.66	18.22

( ): 積算抽出時間

## 5. 浸漬振とう抽出 40 における抽出時間の検討

3. において改良法の浸漬振とうで 40 2 時間の抽出、さらにもう 1 時間追加の抽出を行っても、得られたオリブ油量はまだ低いことが示された。そこで、2 回抽出を行った試料に、新たな溶媒を加えて 40 1 時間の抽出をさらに 6 回追加し、試験溶液を調製した。

3. で行った 2 回を含む 8 回分の試験溶液について、各回までの試験溶液を混合し混合試験溶液とした。これらをガスクロマトグラフィーで測定し、絶対検量線法及び内標準法によりそれぞれの抽出回数における合計オリブ油量を求めた。

表 4 に示すように、絶対検量線法、内標準法ともに抽出回数が増加するとともに合計オリブ油量が増加し、8 回抽出では 18.37 及び 18.22 mg となり、EN 法の抽出量 19.63 mg にかなり近づいた。しかし、合計抽出量は 8 回目でも増加し続け、EN 法の抽出量と比べてやや低いことから、抽出は不十分であり、抽出液中のオリブ油と内標準もまだ平衡に達していないと判断された。

## 6. 高温における抽出条件の検討

LLDPE 製厚手成形品の試料では、40 で 9 時間浸漬振とう抽出を行っても抽出は不十分であった。そのため、より高い温度における抽出について検討を行った。

抽出溶媒として使用するシクロヘキサン

の沸点は 80.74 である。そこで、抽出温度が最も高くなる還流抽出を試みた。試料をシクロヘキサンに浸漬し 2 時間還流したところ、試料は一部溶解して形が崩れ、抽出液は溶解した試料により粘度が高くなり、試料と分離して抽出液を採取することは困難であった。またこれを放冷すると、ポリマーが抽出液中に懸濁するように析出してきたが、遠心分離を行っても分離することはできなかった。

そこで、抽出温度をシクロヘキサンの沸点よりも低い 70 に設定し、浸漬振とう抽出を 1 回目 2 時間、2~8 回目は各 1 時間行った。各抽出液中のオリブ油量を絶対検量線法で測定した。また、1~5 回目までの合計オリブ油量を、絶対検量線法は上記の積算で、内標準法は試験溶液を混合して測定した。

表 5 に示すように、抽出液中のオリブ油量は、1 回目で 17.78 mg と EN 法の 90% 程度抽出されていたが、2~4 回目まで 0.53~0.08 mg のオリブ油が検出された。しかし、5 回目以降は定量限界以下であった。

そこで、抽出 5 回目までの合計オリブ油量を求めた(表 6)。内標準法による合計オリブ油量は、抽出 1 回目(70 2 時間)では 18.11 mg と EN 法より低く、しかも抽出 2 回目で増加が見られ、まだ平衡に達していないと推測された。しかし、抽出 4 回目では 19.00 mg と EN 法の 19.63 mg とやや近い測定値が得られ、5 回目は横這いとなった。すなわち、合計 5 時間の抽出で抽出がほぼ完了したことが示さ

表5 70 浸漬振とう抽出における各回の抽出オリブ油量

定量法	オリブ油量 (mg)							
	抽出1回 (2時間)	抽出2回 (1時間)	抽出3回 (1時間)	抽出4回 (1時間)	抽出5回 (1時間)	抽出6回 (1時間)	抽出7回 (1時間)	抽出8回 (1時間)
絶対検量線法	17.78	0.53	0.18	0.08	ND	ND	ND	ND

( ): 抽出時間、ND : < 0.05 mg

表6 70 浸漬振とう抽出における各回までの合計オリブ油量

定量法	合計オリブ油量 (mg)				
	抽出1回 (2時間)	抽出2回 (3時間)	抽出3回 (4時間)	抽出4回 (5時間)	抽出5回 (6時間)
絶対検量線法 <sup>1)</sup>	17.78	18.31	18.49	18.57	18.57
内標準法 <sup>2)</sup>	18.11	18.66	18.84	19.00	18.96

<sup>1)</sup>: 表5の各回の抽出量の積算、<sup>2)</sup>: 混合試験溶液を測定

れた。

一方、絶対検量線法ではいずれの抽出回数においても内標準法より低い値であり、最終的に18.57 mgとEN法の19.63 mgより低い値であった。測定値が定量限界付近であるための測定誤差や定量限界未滿の抽出が合算されないことなどにより、EN法より低い測定値にとどまったと推測された。

そこで、抽出用試料3検体を用いて、オリブ油と内標準が平衡に達していると推測された70 5時間の浸漬振とう抽出を行い、さらに確認のため1時間の追加の抽出を行った。そして、抽出液1回目及び1+2回目のオリブ油量を絶対検量線法及び内標準法で定量した。

その結果、表7に示すように、内標準法で定量すると1回目の70 5時間の抽出で平均19.77 mgのオリブ油量が得られた。この測定値はEN法のソックスレー42時間抽出で得られたオリブ油量19.63 mgとほぼ同等または上回る測定値であった。また、1+2回目の合計オリブ油量も19.79 mgで1回目と良く一致しており、残存オリブ油と内標準が平衡に達していると考えられた。

一方、絶対検量線法では、1回目の抽出で18.62 mg、1+2回目で18.80 mgとEN法よりやや低く、ややオリブ油量の増加が見られることから、絶対検量線法では抽出はまだ十分ではないと考えられた。

表7 70 5時間及び1時間の浸漬振とう抽出によるオリブ油量の測定

検体	絶対検量線法		内標準法	
	抽出1回目	抽出1+2回目	抽出1回目	抽出1+2回目
A	18.44	18.62	20.10	20.12
B	18.89	19.06	19.72	19.74
C	18.54	18.71	19.49	19.51
平均 ± SD	18.62 ± 0.19	18.80 ± 0.19	19.77 ± 0.25	19.79 ± 0.25

単位 : mg

このように 70 5 時間の抽出でオリブ油量は EN 法とほぼ一致し、オリブ油と内標準の存在比も平衡に達していることから、今回用いた LLDPE 製厚手成形品の抽出条件として十分であることが示された。測定値の変動も小さく、改良法と同様の試験性能と考えられた。

## 7. 抽出困難試料のための改良法変法

改良法 40 2 時間の浸漬振とう抽出では残存植物油の抽出が困難またはその可能性がある試料については、以下の改良法変法を適用することにより、植物油総溶出物量の測定が可能と考える。

### 1) 対象となる試料

植物油の抽出が困難またはその可能性がある試料としては、厚手の成形品などで、しかも試料中の残存植物油量が多い製品である。試料中の残存植物油量が多い試料では、溶出前と溶出後の質量差 ( $W_b - W_a$ ) が大きくなることが多い。

### 2) 改良法変法

このような試料では、改良法の試料中の残存植物油の抽出において、抽出条件を 70 5 時間の浸漬振とう抽出とする。試料の溶解などにより抽出液の採取が困難な場合には適宜抽出温度を下げる。さらに、確認のため抽出液を採取した後の試料にシクロヘキサン 200 ml を加え、1 時間の追加抽出を行う。抽出後の試料は抽出用広口びんに入れたまま保管しておく。

各抽出液はメチルエステル化して試験溶液とする。1 回目の試験溶液、並びに 1 回目と 2 回目の試験溶液を等量ずつ混合したものを GC-FID で測定し、内標準法により定量を行う。両者がほぼ同じ値であれば、1 回目の抽出液の値を残存植物油量 ( $W_c$  mg) とする。

抽出 1 + 2 回目混合試験溶液の方が明らか

に高い場合は、保管していた抽出後の試料にシクロヘキサン 200 ml を加えてさらに 1 時間の抽出を行い、1 ~ 3 回目までの試験溶液を等量混合した混合試験溶液を調製する。これを GC-FID で測定して内標準法で定量し、1 + 2 回目とほぼ同じ値であれば 1 + 2 回目の値を残存植物油量 ( $W_c$  mg) とする。抽出 1 ~ 3 回目の方が明らかに高い場合は同様の操作を繰り返す。

なお、改良法で 40 2 時間の抽出を行った場合でも抽出に不安があれば、さらに 1 時間の抽出を行い、1 回目と 1 + 2 回目との比較を行うことで、抽出が十分であるか確認することが出来る。そこで、抽出が不十分と判断された場合、40 で抽出を繰り返すか、または 3 回目以降の抽出を 70 で行ってもよい。

### 3) 欧州標準規格における対応法

欧州標準規格では、EN 1186-2 で植物油の抽出が困難な試料については、EN 1186-10 Test methods for overall migration into olive oil (modified method for use in cases where incomplete extraction of olive oil occurs)<sup>5)</sup> で試験を行うことを推奨している。この試験法は、試料を還流下で溶解したのちポリマーを析出させ、植物油を抽出する方法である。しかし、この試験法は極めて煩雑である上に試験性能に不安がある。当該試料で添加回収率がとれるか検討の上、適用する必要がある。

## D. 結論

平成 25 年度及び 26 年度の本研究において、油脂及び脂肪性食品用器具・容器包装に対する溶出物の総量試験法である EN 1186-2 Test methods for overall migration into olive oil by total immersion (EN 法) の改良を行い、有害試験薬を使用せず、試験操作が簡便で、しかも試験時間が大幅に短縮された改良法を確立した。さらに平成 27 年度の本研究において、10 機



関による共同試験を実施し、改良法の性能評価を行い、優れた試験性能をもつことを確認した。

今年度は、EN 法によるソックスレー抽出で残存植物油の抽出に長時間を要するLLDPE製厚手成形品について、改良法の適用を検討した。改良法における残存植物油の抽出条件は浸漬振とう抽出 40 2 時間であるが、この条件で得られたオリブ油量は EN 法より低く、しかも 1 時間抽出を追加するとオリブ油量が増加することから、オリブ油と内標準の平衡化は不十分であることが判明した。そこで、抽出条件の見直しを行い、70 5 時間の浸漬振とう抽出で EN 法と同等のオリブ油量が得られることが判明した。EN 法で抽出に 49 時間かかる試料も 5 時間という短時間で抽出可能であった。

当該製品以外の植物油を抽出することが困難な試料またはその可能性のある試料についても、改良法変法である 70 5 時間の浸漬振とう抽出と確認のための 1 時間の抽出、必要があればさらに追加の抽出を行うことにより、植物油総溶出物量試験改良法を適用することが可能である。

この改良法変法は欧州標準規格で推奨する EN 1186-10 よりもはるかに簡便であり、極

めて有用な試験法であると結論された。

## E. 参考文献

- 1) EN 1186-2:2002 Materials and articles in contact with foodstuffs-Plastics Part 2: Test methods for overall migration into olive oil by total immersion (2002)
- 2) 平成 25 年度厚生労働科学研究 食品用器具・容器包装等に含有される化学物質の分析に関する研究 総括・分担研究報告書, p.91 (2013)
- 3) 平成 26 年度厚生労働科学研究 食品用器具・容器包装等に含有される化学物質の分析に関する研究 総括・分担研究報告書, p.77 (2014)
- 4) 平成 27 年度厚生労働科学研究 食品用器具・容器包装等に含有される化学物質の分析に関する研究 総括・分担研究報告書, p.61 (2015)
- 5) EN 1186-10:2002 Materials and articles in contact with foodstuffs-Plastics Part 10: Test methods for overall migration into olive oil (modified method for use in cases where incomplete extraction of olive oil occurs) (2002)