

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

既存添加物の品質向上に資する研究

(20KA1008)

令和2年度研究分担報告書

既存添加物の有効成分の解明

～ヒマワリ種子抽出物の成分解析～

研究分担者 天倉吉章 松山大学薬学部 教授

**研究要旨** ヒマワリ種子抽出物は既存添加物名簿に記載され、「キク科ヒマワリ (*Helianthus annuus* LINNE) の種子又は種子の搾油相より、熱時水又は含水エタノールで抽出して得られたものである。有効成分はイソクロロゲン酸及びクロロゲン酸である」と定義される酸化防止剤である。本研究では、本添加物3製品について逆相HPLCによる成分比較を行った。その結果、いずれの製品も同様のピークパターンを示し、3ピークが主検出して観察された。それらピークについて解析した結果、chlorogenic acid (5-*O*-caffeoylquinic acid), 4-*O*-caffeoylquinic acid, 3-*O*-caffeoylquinic acidと同定された。一方、有効成分の一つとされるイソクロロゲン酸はほとんど検出されなかった。今後、DPPHラジカル消去能を酸化防止活性の指標とし、添加物活性寄与成分の解明を試み、添加物としての品質評価に向けた考察を行う予定である。

研究協力者

好村守生 松山大学薬学部 准教授

内倉 崇 松山大学薬学部 特任助教

## A. 研究目的

ヒマワリ種子抽出物は、既存添加物名簿<sup>1)</sup>に記載され、ヒマワリの種子から得られた、イソクロロゲン酸及びクロロゲン酸を主成分とする。基原・製法・本質は、キク科ヒマワリ (*Helianthus annuus* LINNE) の種子又は種子の搾油相より、熱時水又は含水エタノールで抽出して得られたものである。有効成分はイソクロロゲン酸及びクロロゲン酸であるとされ、酸化防止剤を用途とする。本添加物は、日本食品添加物協会発行の第4版既存添加物自主規格<sup>2)</sup>に記載され、イソクロロゲン酸、クロロゲン酸、ネオクロロゲン酸、カフェー酸を検出する定量法が記載されているが、添加物自体の実データは乏しい。そこで、本添加物の成分データの集積を目的に、添加物製品間の成分比較について検討を行った。

## B. 研究方法

### B-1) 試料及び試薬

ヒマワリ種子抽出物の添加物製品〔1, 2 (C1089, C1090)〕は、日本食品添加物協会を通じて入手した。なお、( )内は国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部の管理番号を示す。製品の外観は黄褐色の粉末(図1)であり、いずれもわずかににおいがある。標品として用いた chlorogenic acid, 4-*O*-caffeoylquinic acid, 3-*O*-caffeoylquinic acid は長良サイエンス株式会社、イソクロロゲン酸類(3,4-di-*O*-caffeoylquinic acid, 4,5-di-*O*-caffeoylquinic acid, 3,5-di-*O*-caffeoylquinic acid) はナカライテスク株式会社より入手したものをを用いた。試薬はすべて特級または HPLC 用を用いた。

### B-2) 装置及び測定条件

逆相 HPLC は Shimadzu Prominence システム(島津製作所)を使用した。測定条件を以下に記す。カラム:L-column ODS (2.1 i.d. × 150 mm)(化学物質評価研究機構), カラム温度: 40°C, 流速: 0.3 mL/min, 測定波長: 280 nm, 移動相: (A) 0.1% ぎ酸-蒸留水及び (B) 0.1vol% ぎ酸-アセトニトリル〔濃度勾配条件 (B in A): 0→30

min (0→50%), 30→35 min (50%→85%), 35→40 min (85%), 40→50 min (85%→100%)].

### B-3) 試料調製

各試料について、10 mg/mLになるよう蒸留水で溶解し、試料溶液とした。調製した各試料溶液について、逆相 HPLC 分析に用いた。

## C. 結果及び考察

### C-1) 試料の逆相 HPLC 分析

分析対象としたヒマワリ種子抽出物の有効成分とされるクロロゲン酸 [chlorogenic acid (5-*O*-caffeoylquinic acid)], イソクロロゲン酸 [di-*O*-caffeoylquinic acid 類 (3,4-di-*O*-caffeoylquinic acid, 4,5-di-*O*-caffeoylquinic acid, 3,5-di-*O*-caffeoylquinic acid)], 及び 4-*O*-caffeoylquinic acid, 3-*O*-caffeoylquinic acid の化学構造を図 2 に示す。各試料溶液について HPLC 分析を行った結果を図 3 に示す。保持時間 17, 19, 20 分付近に顕著な 3 ピークが共通して観察され、それらピークについて検討した結果、標品との直接比較により、3-*O*-caffeoylquinic acid, chlorogenic acid, 4-*O*-caffeoylquinic acid と同定された。

一方で、有効成分の一つとされるイソクロロゲン酸について、3 成分 (3,4-di-*O*-caffeoylquinic acid, 4,5-di-*O*-caffeoylquinic acid, 3,5-di-*O*-caffeoylquinic acid) の標品と直接比較した結果、いずれの成分についても顕著なピークとして観察されなかった。今後、DPPH ラジカル消去能を酸化防止活性の指標とし、添加物活性寄与成分の解明を試み、添加物としての品質評価に向けた考察を行う予定である。

## D. 結論

既存添加物ヒマワリ種子抽出物について、添加物製品 2 検体の逆相 HPLC による成分比較を行った結果、いずれの製品も同様のピークパターンを示し、3 ピークが主検出して観察された。それらピークについて解析した結果、3-*O*-caffeoylquinic acid, chlorogenic acid, 4-*O*-caffeoylquinic acid と同定された。一方、有効成分の一つとされるイソクロロゲン酸類はほとん

ど検出されなかった。

## E. 参考文献

- 1) 厚生労働省告示第 120 号 (1996) “既存添加物名簿” 平成 8 年 4 月 16 日
- 2) 第 4 版既存添加物自主規格, 平成 20 年 10 月, 日本食品添加物協会

## F. 研究業績

1. 学会発表等  
なし

2. 論文発表等

2-1. 総説

- 1) Amakura Y, Yoshimura M, Sugimoto N, Akiyama H: Characterization of components in natural products for the evaluation of existing food additives in Japan. *Chem. Pharm. Bull.*, **2021**; 69: 32-39.

## G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

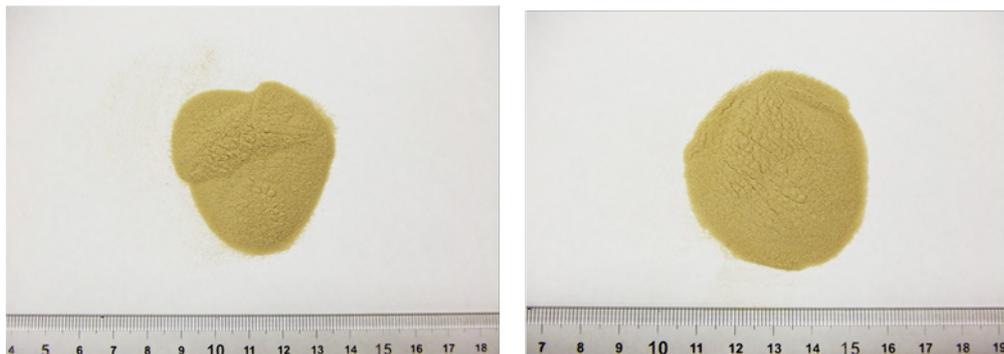
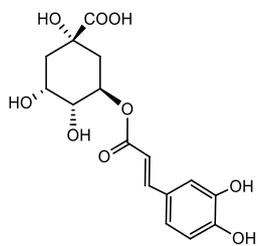
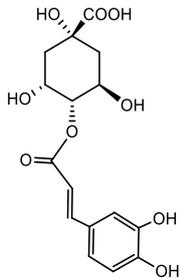


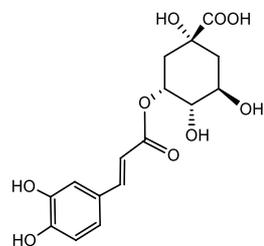
図1. ヒマワリ種子抽出物



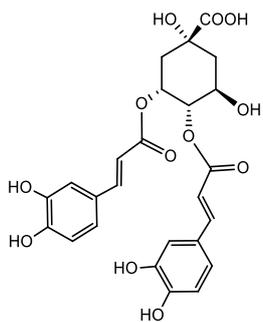
Chlorogenic



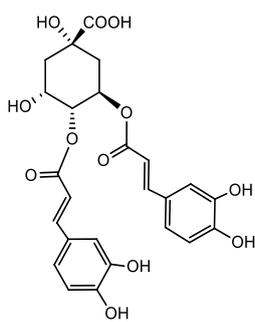
4-*O*-Caffeoylquinic



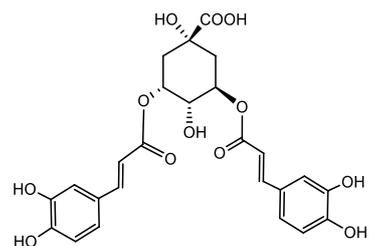
3-*O*-Caffeoylquinic



3,4-Di-*O*-caffeoylquinic



4,5-Di-*O*-caffeoylquinic



3,5-Di-*O*-caffeoylquinic

图 2

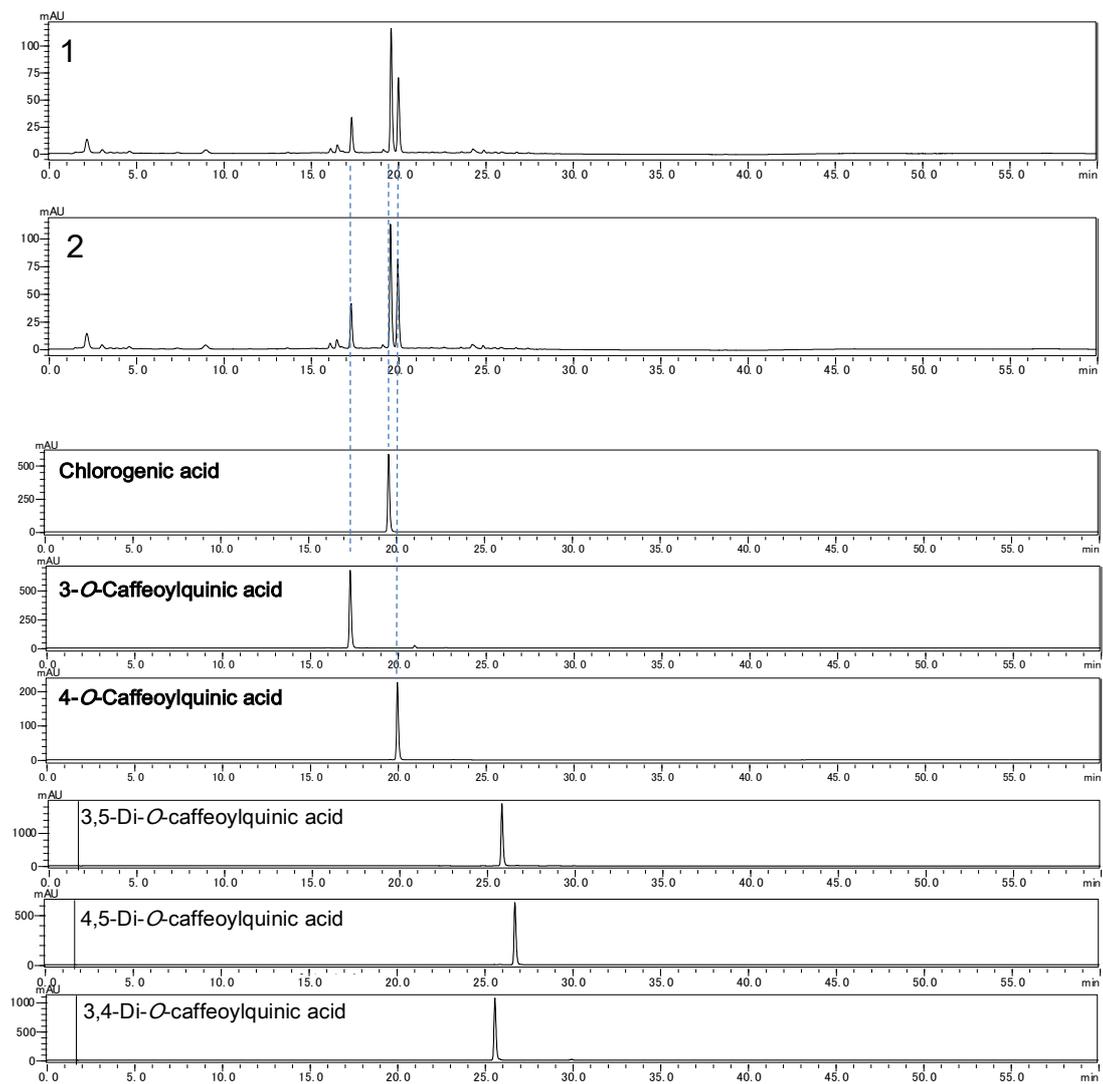


図 3. HPLC クロマトグラム (at 280 nm)