

石川県産酵母の化粧品素材としての有効性評価

山崎裕也* 井上智実* 笹木哲也*

近年、酵母の機能性を利用した化粧品の開発が盛んに行われている。本研究では、石川県産酵母を用いた化粧品素材としての有効性を評価するため、肌の天然保湿因子として知られているアミノ酸、肌細胞の活性化に重要な働きをする葉酸について含有量の評価を行い、市販天然酵母と比較した。また、有効成分が多く含まれていた兼六園八重桜由来酵母KEN24-15株(KEN)の培養分解物については、表皮細胞増殖促進評価を行った。その結果、KENは他の酵母と比較して、天然保湿因子の構成成分であるアルギニン、プロリンの含有量が高いことが明らかになった。また、KENはヒト表皮細胞増殖作用が認められている γ -アミノ酪酸、ビタミンB₉として知られる葉酸について、含有量が高い傾向を示した。さらに、KEN培養分解物はヒト表皮細胞に対する増殖促進効果を示した。

キーワード: 石川県産酵母, アミノ酸, 葉酸, 化粧品素材, 表皮細胞増殖促進

Effectiveness Evaluation of Ishikawa Prefecture Yeast as a Cosmetic Material

Yuya YAMAZAKI, Tomomi INOUE and Tetsuya SASAKI

Recently, cosmetics utilizing the functionality of yeast have been actively developed. In this study, in order to evaluate the effectiveness of a cosmetic material using Ishikawa prefecture yeast, the contents of amino acids known as natural moisturizing factors of skin and folic acid (which plays an important role in activation of skin cells) were determined. We compared the contents of amino acid and folic acid in Ishikawa prefecture yeasts and commercial natural yeasts. In addition, the culture decomposition product of the Kenroku Garden Yaezakura-derived yeast KEN24-15 strain (KEN), which contains a large amount of active ingredients, was evaluated for promoting epidermal cell growth. As a result, KEN was found to have a higher content of arginine and proline, which are constituents of natural moisturizing factors. In addition, KEN tended to have a higher content of γ -aminobutyric acid (which is known to have a human epidermal cell proliferation effect) and folic acid (vitamin B₉). Furthermore, the KEN culture degradation product showed a growth promoting effect on human epidermal cells.

Keywords: yeast from Ishikawa prefecture, amino acid, folic acid, cosmetic material, promotion of epidermal cell growth

1. 緒言

近年、地域性や市販酵母にない特長を有している可能性があり、差別化が期待できることから自然界から野生酵母を分離し、発酵食品を開発する研究が各地で行われている¹⁾³⁾。石川県工業試験場では、平成22年度より県内の名所旧跡の花などからアルコール発酵力の高い酵母の分離に取り組んできた。その結果、兼六園の八重桜、金沢城のソメイヨシノ、白山高山植物園のハクサンフウロなどから発酵力の高い酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)の分離に成功し、これらの酵母を利用した清酒やパンの開発を支援してきた⁴⁾⁵⁾。

一方、酵母には様々な機能性成分が含まれていることが報告されており、化粧品など食品以外の製品開発が活発に行われている⁶⁾⁸⁾。そこで本研究では石川県産酵母(以下、県産酵母)に含まれる機能性成分を明らかにするとともに、肌細胞への有効性を評価し、化粧品分野への応用を目指した。

2. 実験方法

2.1 供試菌株および試料調製

県産酵母は、食品に利用されている安全性が高い酵母である*S.cerevisiae*と同定された兼六園の八重桜由来酵母KEN24-15株(以下、KEN)、金沢城のソメイヨシノ由来酵母KAN23-4株(以下、KAN)、白山高山植物園の

*化学食品部

ハクサンフウロ由来酵母HAK2-7株(以下、HAK)の3種を用い、比較試料として市販の天然パン酵母3種(A, B, C)を供試菌株とした。各酵母は5%グルコース-YPD培地(酵母エキス1%, ペプトン2%, グルコース5%)で一晩前培養した後、前培養液1%を5%グルコース-YPD培地に加え、30℃24時間振とう培養した。これを遠心分離によって集菌・洗浄後、凍結乾燥したものを分析用試料とした。

2. 2 アミノ酸含有量の測定

各試料10mgを1mLの蒸留水に懸濁し、40℃で24時間加熱処理した。その後、遠心分離して上清を回収し、メンブランフィルター(0.45 μ m)でろ過したものを0.02mol/L塩酸で適宜希釈し、分析用試料とした。アミノ酸含有量は、アミノ酸分析計((株)日立製作所L-8900)を用いて分析した。分析はn=2で実施し、平均値を示した。

2. 3 葉酸含有量の測定

各試料10mgに鶏由来パンクレアチン10mgを加え、0.05mol/Lリン酸緩衝液(0.1%アスコルビン酸塩,pH7.2)を10mL加えた後、37℃で2時間振とうした。メンブランフィルター(0.45 μ m)でろ過したものを滅菌水で適宜希釈し、分析用試料とした。葉酸含有量は、VitaFast®葉酸キット(株)アズマックス)を用いて分析した。分析はn=3で実施し、平均値と標準偏差を示した。

2. 4 表皮細胞増殖促進評価

表皮細胞増殖促進評価については試料としてKENを使用し、以下の方法で酵母培養抽出物を調製した。

滅菌したGP液体培地(ペプトン0.5%, グルコース2%)2700gに、あらかじめ同培地で培養しておいたKENの前培養液300gを添加し、30℃で通気攪拌しながら20時間培養した。加熱殺菌した後、水酸化ナトリウム水溶液でpH8.5に調整し、3時間攪拌しながら90℃で加熱処理した。この液をpH7.0に調整後、ろ過したものをKEN培養抽出物とした。

ヒト表皮細胞NHEKを、HuMedia KG2培地(倉敷紡績(株))を入れた96穴マイクロプレートに 8×10^3 個/穴となるように播種し、37℃、5%CO₂の条件下で1日間培養した後、培地をHuMedia KB2に交換した。これにKEN培養抽出物を含むPBS(-)(Phosphate Buffered Saline)を添加し、同条件でさらに2日間培養した。培地除去後、

Hoechst33342を添加しDNA染色を行い、蛍光プレートリーダー(Thermo Fisher Scientific社)を使用して、Ex=355nm, Em=460nmの蛍光を測定した。得られた値はコントロールを100とした時の相対値で示した。なお、分析はn=4で実施し、平均値と標準偏差を示した。

3. 結果および考察

3. 1 アミノ酸含有量の評価

皮膚は我々の身体を包む最大の組織で、生命の維持に不可欠である。特に、人間にとって水分保持は重要な課題で、角層を含む表皮にその役割がある。角層は表皮細胞の増殖・分化により形成され、バリア機能と保湿機能を備えている。角層の保湿機能に大きく貢献するのが、天然保湿因子 natural moisturizing factors (NMF) と呼ばれる水溶性低分子である⁹⁾。NMFの40%はアミノ酸で構成されており、角層の水分保持にアミノ酸が重要な役割を担っている¹⁰⁾。

そこで、NMFとして知られるアミノ酸について県産酵母3種および市販天然酵母3種の含有量を評価した。各酵母の最適な培養条件を検討したところ、すべての酵母で5%グルコース-YPD培地、30℃24時間振とう培養で最も生育がよく、定常期であったこと、また、その後の処理において40℃24時間加熱処理が最適であったことから、この培養物を試験に用いた。

各酵母のアミノ酸含有量を図1に示す。県産酵母3種は、グルタミン、グルタミン酸、ロイシン、リジン、アルギニンが高い傾向を示した。特に、KENは他の酵母と比較してアルギニン、プロリン、 γ -アミノ酪酸(GABA)含有量が高い傾向を示した。アルギニン、プロリンはNMFの中でも割合が高い成分であり、特にプロリンは乾燥状態での保水作用がアミノ酸の中で最も高いことが知られている¹⁰⁾。また、GABAにはヒト表皮細胞増殖作用が認められ、肌のターンオーバーを促進することが報告されている¹¹⁾ため、KENはこれらの効果が期待できると考えられた。

3. 2 葉酸含有量の評価

葉酸はビタミンB₉とも呼ばれる必須栄養素で、DNA合成や修復に必要な成分であり、細胞が活発に分裂する際に重要な働きをすることが知られている。例えば、葉酸を外用した場合、皮膚の内部にある線維芽細胞を活性化し肌のターンオーバーを改善する作用、紫外線から肌細胞を保護する働き、損傷したDNAの修復を促

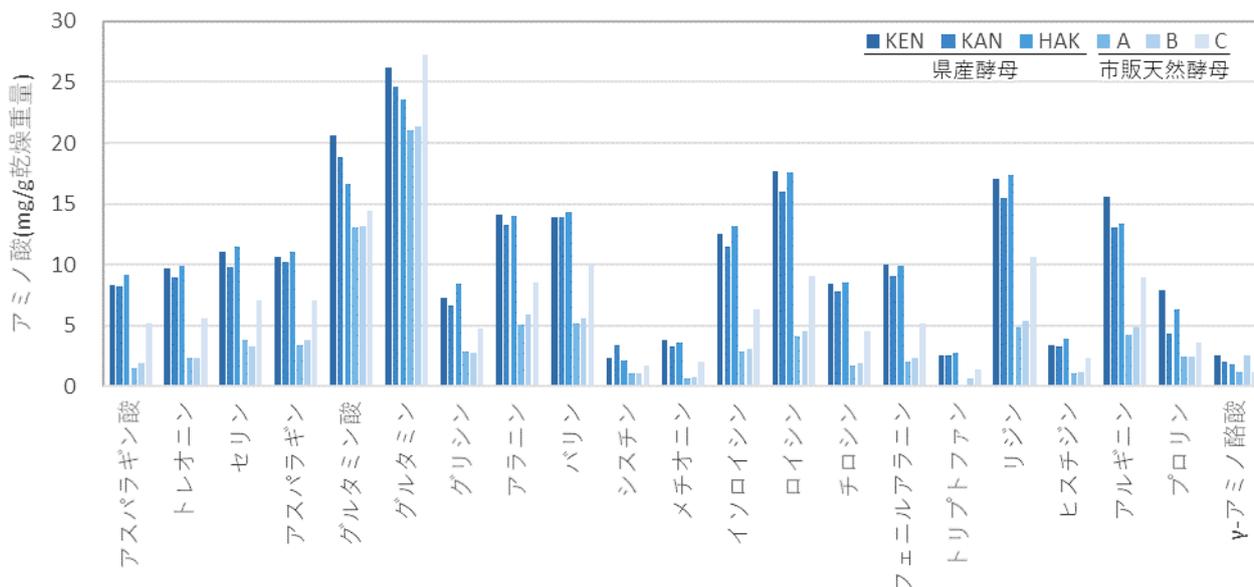


図1 県産酵母および市販天然酵母のアミノ酸含有量

進し肌老化を防ぐアンチエイジング効果などが報告されている¹²⁾。

清酒酵母をはじめ、様々な酵母に葉酸が含まれていること⁶⁾から県産酵母と市販天然酵母の葉酸含有量を評価した。その結果を図2に示す。市販天然酵母では葉酸含有量が45~62 $\mu\text{g/g}$ であったのに対して、県産酵母では54~128 $\mu\text{g/g}$ であった。特にKENは葉酸含有量128 $\mu\text{g/g}$ と他の酵母に比べて高含有であることが明らかになった。酵母の葉酸含有量について、最も高い清酒酵母で95 $\mu\text{g/g}$ 、実験室酵母、焼酎酵母、ワイン酵母、ビール酵母で17~25 $\mu\text{g/g}$ と報告されている¹³⁾。これらの値と比較しても、KENには葉酸が高い濃度で含まれていることが明らかになった。これらの結果からKENは肌への効果が期待できると考えられた。

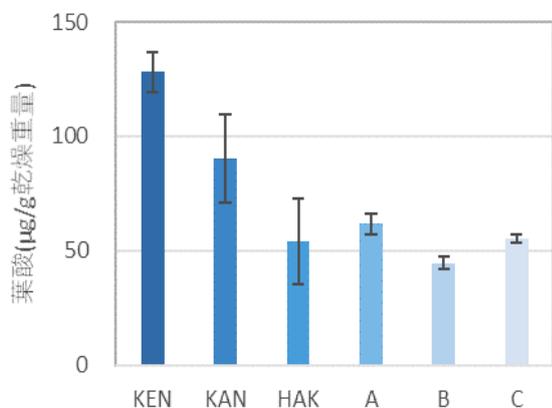


図2 県産酵母および市販天然酵母の葉酸含有量

3. 3 表皮細胞増殖促進評価

皮膚は皮下脂肪の層、それを覆う2~3mmの真皮、真皮の上には約0.1~0.2mmの表皮で構成されている。表皮は、形態的な特徴から基底層、有棘層、顆粒層、角層に大別され、基底層において増殖によって生まれた表皮細胞が、形態や機能を変えながら、有棘層、顆粒層を経て最外層の角層に至って垢となって剥がれ落ちる⁹⁾。この一連の流れをターンオーバーと呼び、この速度は表皮細胞の分裂活性に対応している。また、細胞の面積もターンオーバー速度と密接な関係があり、加齢とともにターンオーバー速度が遅くなり、細胞面積も大きくなることが知られている¹⁴⁾。したがって、表皮細胞を増殖促進することができれば、ターンオーバーが促進され、キメの整った若々しい肌が保たれることが期待される。

3. 1, 3. 2の結果から県産酵母の中で特にKENが肌への効果が期待できたため、KEN培養分解物について、表皮細胞増殖促進評価を行った。その結果を図3に示す。KEN培養分解物1%添加で108%、2%添加で131%の表皮細胞増殖率と添加量に伴い表皮細胞が増殖した。特にKEN培養分解物2%添加で顕著な表皮細胞増殖促進効果が認められた。また、KEN培養分解物2%はGABA3.4mg/Lの表皮細胞増殖率¹¹⁾と同等程度であった。ここで、KEN培養分解物2%のGABA濃度は0.5mg/L未満であり、3.4mg/Lより低濃度であることから、GABA以外の成分が表皮細胞の増殖に関与していると考えられた。また、葉酸は細胞のDNA合成に重要な役割があ

り、皮膚の内部にある線維芽細胞を活性化し肌のターンオーバーを改善することが報告されている¹²⁾ことから、表皮細胞においても増殖促進に関与している可能性が示唆された。さらに、酵母培養分解物は糖質やアミノ酸およびそれら代謝物によって構成される種々の化合物を含有する天然の混合物である。したがって、GABAや葉酸だけでなく様々な成分が相加的・相乗的に作用しているものと推察された。

これらの結果より、KEN培養分解物は肌に対する有用な効果が示されたことから、化粧品素材として利用可能であると考えられた。

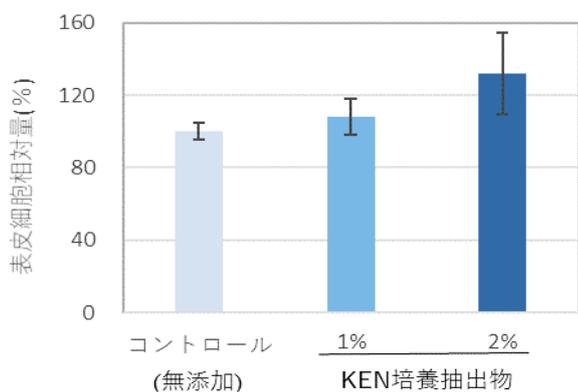


図3 KEN培養抽出物の表皮細胞増殖促進評価

4. 結 言

県産酵母に含まれる肌への効果が期待される成分について、アミノ酸含有量、葉酸含有量の評価を行った。また、KEN培養抽出物について、表皮細胞増殖促進評価を行った結果を以下に示す。

- (1) 県産酵母3種は市販天然酵母と比べて、大部分のアミノ酸が多い傾向を示した。特にKENはアルギニン、プロリン、GABA含有量が高い傾向を示した。
- (2) KENは他の酵母に比べて葉酸含有量が高い傾向を示した。
- (3) KEN培養抽出物はヒト表皮細胞に対する増殖促進効果を示した。

これらの結果から、KENは肌への効果が期待でき、化粧品素材として利用可能であると考えられた。

今後、これらを利用した化粧品開発を積極的に進めていきたい。

謝 辞

本研究の遂行に当たり、酵母培養抽出物の調製・評価していただいた㈱テクノブルに感謝します。

参考文献

- 1) 土佐典照, 野津智子, 秋吉渚月, 大渡康夫, 上池貴晃, 近重克幸, 永田善明. 島根県きぬむすめの米粉と世界遺産石見銀山の梅花から単離された酵母の米粉パン製造特性. 日本食品科学工学会誌. 2015, vol. 62, no. 5, p. 25-28.
- 2) 柏木亨. 桜の花から分離した酵母による清酒の商品化. 日本醸造協会誌. 2002, vol. 97, no. 1, p. 2-6.
- 3) 殿内暁夫, 森山裕理子. 白神山地からの酵母の分離と利用. 日本生物工学会誌. 2015, vol. 93, no. 10, p. 632-633.
- 4) 井上智実, 松田章. 花から分離した酵母を用いたオリジナル清酒の開発. 石川県工業試験場研究報告. 2017, no. 67, p. 27-32.
- 5) 井上智実, 山崎裕也. 石川県産酵母を用いたパンの開発. 石川県工業試験場研究報告. 2016, no. 66, p. 43-46.
- 6) 金井宗良, 藤井力, 福田央, 家藤治幸, 浜田健一, 糟谷健二, 神前健. 葉酸高含有酵母の製造方法, 葉酸高含有酵母, 葉酸高含有酵母破砕物, 及び食品. 特開2013-063065. 2013-04-11.
- 7) 伊豆英恵, 鎌田直樹, 高橋千秋. 清酒及び醸造副産物の機能性. 日本醸造協会誌. 2015, vol. 110, no. 4, p. 198-206.
- 8) 池内啓, 丹羽誠. 精製ビールエキスからの新規化粧品素材「ビアージュ(R)」の開発. 日本醸造協会誌. 2008, vol. 103, no. 11, p. 848-854.
- 9) 平尾哲二. 皮膚の保湿メカニズム. 日本化粧品学会誌. 2013, vol. 37, no. 2, p. 95-100.
- 10) ㈱日本必須アミノ酸協会編. タンパク質・アミノ酸の科学, 工業調査会, 2007.
- 11) “GABA の表皮への作用を確認”, クラシエホームプロダクツ(株). http://www.kracie.co.jp/release/pdf/071029_gaba1.pdf, (参照 2020-06-24).
- 12) “葉酸でアンチエイジング”, ㈱アイ・ティー・オー. http://www.provitaminic.net/clicos/CLICOS%2009_vol06.pdf, (参照 2020-06-24).
- 13) 金井宗良. 清酒酵母が持つ機能性パワー. 酒類総合研究広報誌. 2011, no. 19, p. 3.
- 14) 高橋元次. 基礎化粧品と皮膚(I). 色材協会誌. 1989, vol. 62, no. 7, p. 430-438.