

# 廃棄される梅種子水抽出液の美白活性成分の同定

Identification of whitening active ingredient in aqueous extract from discarded seeds of Japanese apricot

○対比地華<sup>1</sup>、浅野成美<sup>2</sup>、引間俊雄<sup>2</sup>、石原 智<sup>3</sup>、本間知夫<sup>1,4</sup>

○Hana Tsuihiji<sup>1</sup>, Narumi Asano<sup>2</sup>, Toshio Hikima<sup>2</sup>, Satoru Ishihara<sup>3</sup>, Tomoo Homma<sup>1,4</sup>

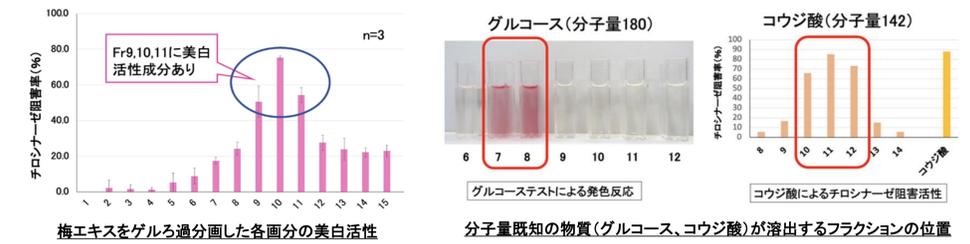
前橋工科大院生物工学<sup>1</sup> (株)コスモビューティー<sup>2</sup> 群馬県農業技術センター<sup>3</sup> 前橋工科大生命工学<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Div Biotech, Maebashi Inst. Tech., <sup>2</sup>Cosmo Beauty Co., Ltd., <sup>3</sup>Gunma Agric. Tech. Center, <sup>4</sup>Dept Life Eng, Maebashi Inst. Tech.

## 背景・目的



廃棄される梅種子を水に浸漬して得られる梅種子水抽出液(梅エキス)に美白活性があり、梅エキスを美白剤原料とした化粧品が商品化された。美白活性成分は？



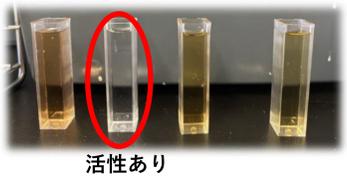
美白活性成分を同定するためにゲルろ過分画を行った結果、梅エキス中の美白活性成分の分子量は140前後であることが分かった。

【目的】梅エキスをゲルろ過分画→固相抽出分画にて精製後、美白活性成分の同定を試みる。

## 方法

### (1) 美白活性の評価

メラニン合成酵素であるチロシナーゼの活性に対する阻害の有無(阻害率)を算出することで美白活性を評価した。ポジティブコントロールとして、美白剤として知られているコウジ酸を使用した。



活性あり

溶液	mL	A	B	C	D
0.1Mリン酸緩衝液 (pH6.5)	2.5	○	○	○	○
L-DOPA	1.0	○	○	○	○
DMSO	0.125	○	○	○	○
試料溶液 (A,Bはリン酸緩衝液)	0.5	×	×	○	○
25°C、15分間保温					
チロシナーゼ酵素溶液 (B,Dはリン酸緩衝液)	0.0625	○	×	○	×
合計	4.1875				
25°C、5分間保温					

チロシナーゼ阻害率(%) =  $100 - [C \text{ 吸光度} - D \text{ 吸光度}] / [A \text{ 吸光度} - B \text{ 吸光度}] \times 100$

### (3) 固相抽出分画

ゲルろ過分画を繰り返し行うことで回収した美白活性成分を含む画分を、陽イオン交換あるいは陰イオン交換の担体を詰めた各カラム(Waters, Oasis MCX あるいは MAX)を使って固相抽出分画を行った。最終的に得られた各画分の美白活性を調べた。



### (2) ゲルろ過分画

梅エキス 2.0 mL をカラムに充填し、酢酸緩衝液を随時添加して溶出してくる液を 1.5 mL ずつチューブに分取した(No.1~30)。  
カラム: 20 mL オープンカラム ゲル: Sephadex LH-20 移動相: 酢酸緩衝液(pH5.70)  
分取した各分画液のチロシナーゼ阻害活性を測定することで、美白活性成分を含むフラクションの位置を決定した。

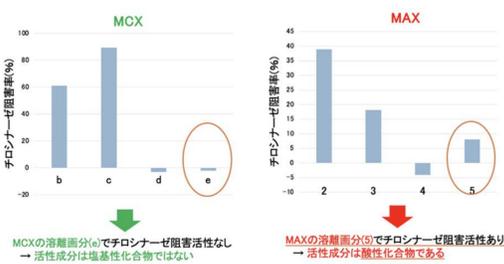


### (4) LC/TOF-MSによる美白活性成分の分析及び候補物質の美白活性

ゲルろ過分画→固相抽出分画を実施して精製・回収した美白活性成分を含む液は、(株)食環境衛生研究所(群馬県前橋市)に美白活性成分の分析・同定を依頼した(LC/TOF-MSによる分析)。  
美白活性成分の候補物質の純品を入手し、その水溶液の美白活性を調べた。

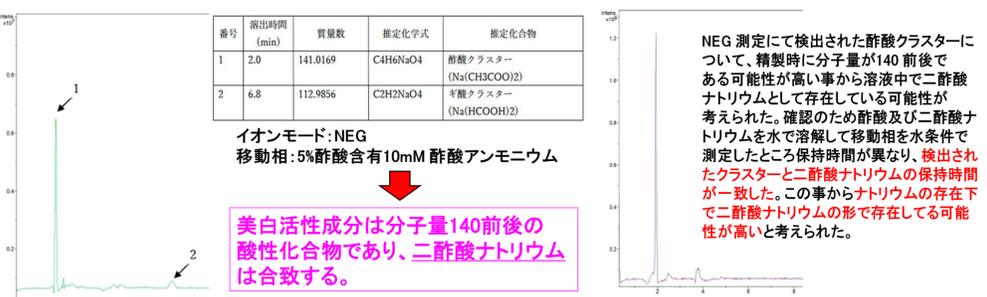
## 結果・考察

### (1) 固相抽出分画

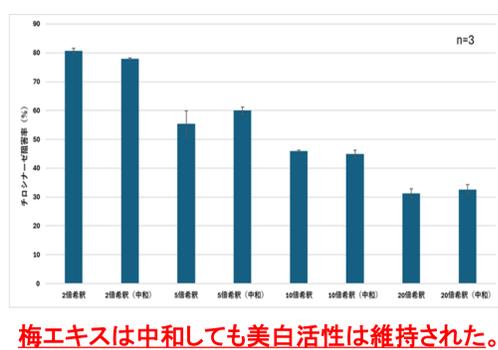
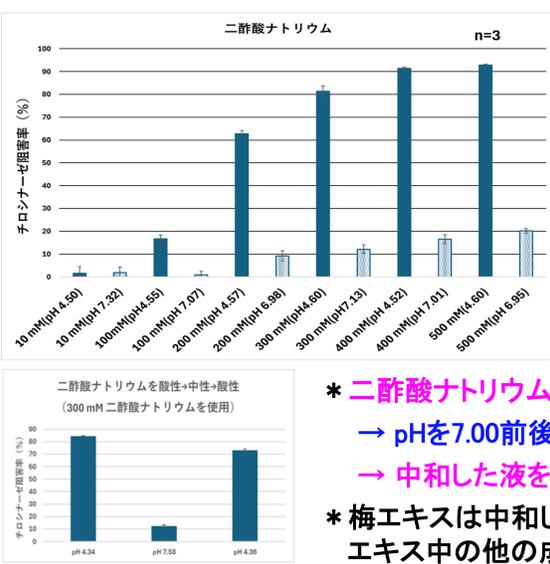


固相抽出分画の結果、美白活性成分は酸性化合物であることが分かった。  
固相抽出分画で美白活性成分を含む画分を回収する際、使用する溶液のpHにより回収率(MAXの5番のチロシナーゼ阻害率の大きさ)が変わった。  
→ pH10.00 で固相抽出分画を行った場合に一番高いチロシナーゼ阻害率が得られた。

### (2) LC/TOF-MSによる美白活性成分の分析



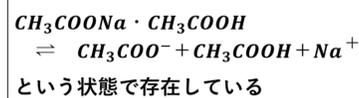
### (3) 二酢酸ナトリウム水溶液の美白活性



梅エキスは中和しても美白活性は維持された。

二酢酸ナトリウム水溶液は濃度依存的に美白活性を示した。  
→ pHを7.00前後にする(中和する)と美白活性は低下した。  
→ 中和した液を再度酸性にすると美白活性を示した。  
梅エキスは中和しても美白活性が維持されることから、エキス中の他の成分の関与も考えられた。

二酢酸ナトリウムは水溶液中で

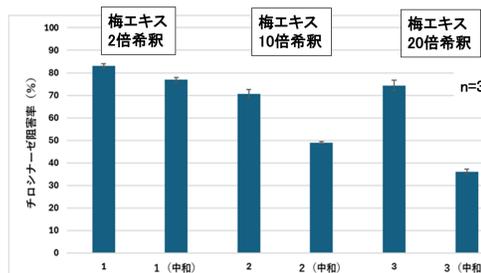


という状態で存在している

二酢酸ナトリウム pKa = 4.756 (20°C)

中和すると解離する

酢酸ナトリウムと酢酸は、いずれも美白活性を示さなかった。



1: 200 mM二酢酸ナトリウム: 梅エキス原液=1:1 (梅エキス2倍希釈相当)  
2: 200 mM二酢酸ナトリウム: 梅エキス原液=9:1 (梅エキス10倍希釈相当)  
3: 200 mM二酢酸ナトリウム: 梅エキス原液=19:1 (梅エキス20倍希釈相当)

梅エキスと混合することでエキス中の成分が存在する状態を作り、その状況で中和したが美白活性は低下したことから、エキス中の成分は二酢酸ナトリウムの活性維持には関与していない。

## まとめ

梅エキス中の美白活性成分として二酢酸ナトリウムが候補物質として挙がり、その水溶液も美白活性を示した。しかし、中和すると美白活性が失われ、梅エキスが示す特徴とは異なっていた。今後、梅エキス中の酢酸含有量を調べたり、他の成分の関与も検討する必要がある。

## 謝辞

冷凍梅種子を提供頂いたAdaBio(株)(群馬県高崎市)に御礼申し上げます。