

天然酵母の化粧品利用に関する研究

大阪府立園芸高等学校 バイオサイエンス科 微生物部

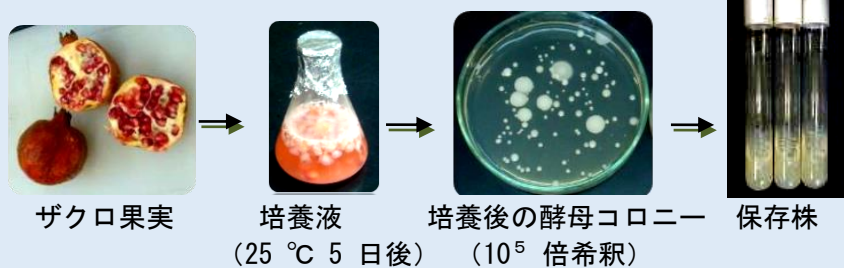
逢坂絢菜 大野くるみ 勝本萌 北原鼓也 田崎裕大

研究目的：酵母発酵液には、美肌のビタミンと言われるビタミンB群や、肌の生成や保湿に欠かせないアミノ酸、ミネラル類が豊富で、これら栄養素が肌に美肌効果をもたらすと考えられている。私達は、主として園芸高校に生息している野生酵母分離し、培養エキスの保湿性、抗酸化活性試験などを通して、化粧品としての可能性を検討した。

天然酵母の分離と供試株の選定：

分離源として、果実、食品、花など15種類から野生酵母28株を分離した。分離した酵母を培養し、培養液の臭気試験で不快臭酵母を排除した。その結果、ザクロ果実、小梅果実、ゆず果実、カーネーション(花)分離源4株を選定した。

(ザクロ酵母分離例)



天然酵母細胞観察：酵母分離株4種類の細胞を走査電子顕微鏡(SU1510)1万倍で観察し(図1)、細胞の直径(μm)を計測した。その形状比を表1に纏めた。

図1 分離酵母細胞像 (SEM ×10 K)

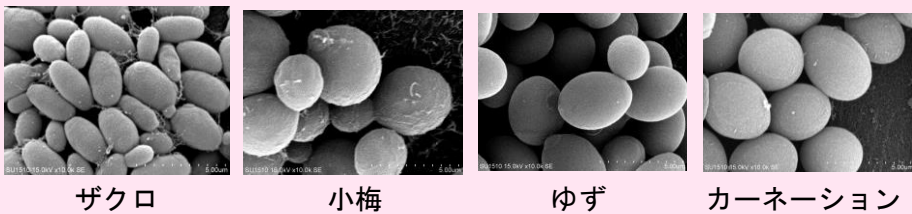


表1 分離酵母細胞形状比

| (分離株種類) | 形状 | 長径(μm) | 短径(μm) | 形状比 |
|---------|----|--------|--------|------|
| ザクロ | 円筒 | 4.59 | 2.37 | 1.94 |
| 小梅 | 球 | 4.53 | 4.45 | 1.02 |
| ゆず | 楕円 | 4.48 | 3.48 | 1.29 |
| カーネーション | 楕円 | 5.02 | 3.75 | 1.34 |

天然酵母の発酵性と資化性：

酵母分離株のアルコール発酵性、糖類資化性について調べた。アルコール発酵性は10%グルコース含有YM培地に各酵母を接種し素寒天1mlを加えて30℃で24時間に発生する二酸化炭素のガス量で発酵性の強弱を判定した(図2)。ゆず、カーネーション由来株は強い発酵性を有し、ザクロ、小梅由来株は発酵性の弱いことが判明した。

糖類資化試験では6種類の糖類(1%)と酵母ニトロゲンベース(0.67%)を含有する炭素源資化性寒天培地に(素寒天で重層化)白金線で各酵母種(培地上部にザクロ、左部に小梅、下部にゆず、右部にカーネーション株)を接種し25℃で1週間培養した。形成されたコロニーの大きさ(直径mm)を測定し比較した(図3、表2)。その結果グルコース、フルクトース、サッカロース、マルトースでは、ゆず、小梅、カーネーション、ザクロ株の順で資化性に差が生じた。又、ラクトース、キシロースでは、小梅株だけに資化性がみられた。アルコール発酵性、糖類資化性からゆず株とカーネーション株は分類上近い関係にあると推測される。より詳しく知るために、より多くの糖類で資化試験が必要と考える。



図2 アルコール発酵試験
左からザクロ、小梅、ゆず、カーネーション株

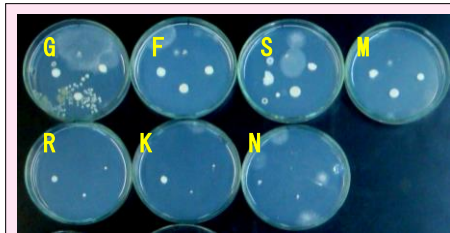


図3 分離酵母の糖類資化試験

表2 糖類資化試験(酵母コロニー計測)

| (分離株種類) | ザクロ | 小梅 | ゆず | カーネーション |
|-----------|-----|----|----|---------|
| 糖類 | | | | |
| グルコース(G) | +2 | +7 | +7 | +6 |
| フルクトース(F) | +3 | +7 | +7 | +7 |
| サッカロース(S) | +2 | +8 | +9 | +7 |
| マルトース(M) | - | +7 | +8 | +6 |
| ラクトース(R) | - | +3 | - | - |
| キシロース(K) | - | +4 | - | - |
| シュカール(N) | - | - | - | - |

天然酵母の保湿性試験：

方法：準備として麴汁液体培地(pH 5.6、糖度10% - 図4)に種を接種30℃で4日間培養し(図5)、培養後の培地液性(pH、糖度)を測定し下記の通り保湿性試験をすすめた。

1) 4種の酵母培養液を95℃で加熱殺菌し、それらの上澄み液を無菌濾過した液(図6)を試料とした(図7)。麴汁液体培地も同様に処理し対照試料とした。

2) (天秤室作業)電子天秤を使用してペーパーディスクに試料10μl吸収した重量を2分毎、10分間計測した(図8)。結果・考察：培養後の培地pH、糖度(%)測定値を表3に、保湿性試験では計測した重量から求めた水分残存率を図9に示し保湿性能を判定した。



図4 麴汁培地 図5 酵母培養

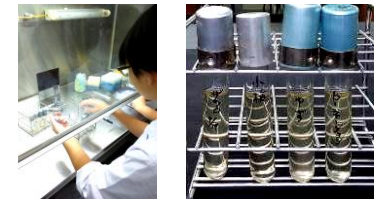


図6 無菌濾過 図7 試料

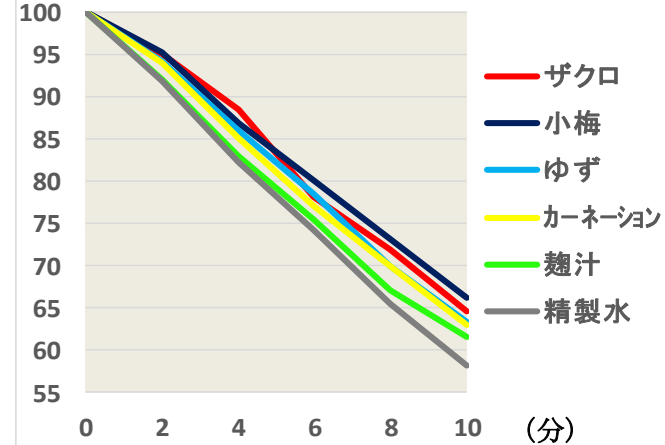
表3 培養後の液性変化(pH、糖度)

| 試料種類 | ザクロ | 小梅 | ゆず | カーネーション |
|-------|------|------|------|---------|
| pH | 3.66 | 3.13 | 4.30 | 4.20 |
| 糖度(%) | 8.9 | 8.5 | 4.3 | 4.2 |



図8 重量測定

図9 酵母培養液の保湿性試験による水分残存率(%) (室温23℃、湿度42%)



pH変化からザクロと小梅株は有機酸の産出が顕著でゆずとカーネーション株の糖度低下はアルコール発酵によると考えられる。保湿性では4種とも対照の麴汁、精製水を上回り、高位から小梅、ザクロ、ゆず、カーネーション株の順であった。培養液は保湿成分が生産されたと考える。

天然酵母の抗酸化活性試験：

方法：酵母培養液(試料液)とラジカル物質であるDPPH(1,1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジル)とを反応させ、517nmでの吸光度を測定した。準備として、あらかじめ電子天秤でDPPHを秤量しエタノールに溶解し200μMに調整(図10)。

1) エタノールと酵母培養液の混合液を右表の通りに配合し試料(I液)とした。
2) II液(DPPH 200μM)1mlをI液に添加し517nm吸光度を測定。(空試験はII液はDPPH液のかわりにエタノール1ml添加。)

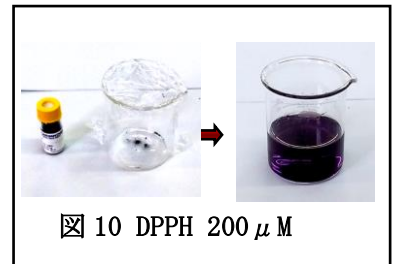


図10 DPPH 200μM

| I液(EtOHと試料溶液との割合) | | | |
|-------------------|------|------|------|
| 試験管No. | 1 | 2 | 3 |
| EtOH(μl) | 2000 | 1750 | 1500 |
| 試料溶液(μl) | 0 | 250 | 500 |

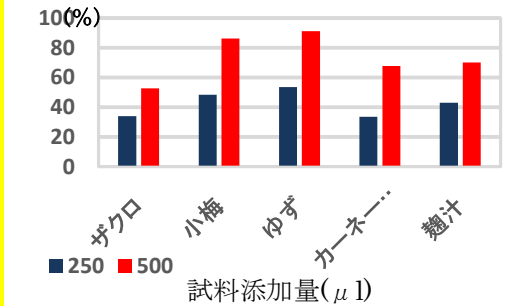
結果・考察：試料抗酸化活性測定(図11)から吸光度差を基にDPPH消去率を計算した(図12)。



図11 各試料500μl添加によるDPPHの変化(20分後)

左から試料添加なし、ザクロ、小梅、ゆず、カーネーション、麴汁(対照)の順

図12 各試料添加によるDPPH消去率



酵母培養液4種とも抗酸化性を有する結果であるが、DPPHの消去率で対照の麴汁を上回ったゆず、小梅酵母培養液に抗酸化成分が増加したと言える。これらは保湿性だけでなく、抗酸化性の高機能付加化粧品としての可能性が高まったと考える。