

令和 4 年 6 月 27 日現在

機関番号：35305

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K02386

研究課題名(和文) 未利用資源ユズ種子の香粧品としての機能性解明

研究課題名(英文) Functional evaluation of yuzu seeds as a cosmetic

研究代表者

吉金 優 (Yoshikane, Yu)

ノートルダム清心女子大学・人間生活学部・准教授

研究者番号：10530131

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：ユズ果実は1個当り30個前後の種子を含み、その重量は果実重量あたり約2割を占める。また、果実のほとんどが加工利用され、種子の有効活用が望まれていた。本研究では、ユズ種子の香粧品への活用を目的として、機能性評価を行った。ユズ種子エキスは、フラボノイドを多く含み、シミ・くすみの原因となるメラニン生成を抑制した。また、肌のハリ・弾力性に関与する細胞外基質の分解を抑制し、産生を促進した。特に、摘果される未成熟果実(青ユズ)の種子は、機能性成分含量およびいくつかの機能性が高く、今後の有望な香粧品原料となりうることが期待された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで産業廃棄物として経費をかけ廃棄されてきた一方、ユズ生産地では古くからユズ種子を焼酎に漬け、その抽出液を美容液として活用されてきた。また、アロマセラピー分野では、資材のほとんどは外国産であり、和製の資材への関心が高まりとともに、それらの基礎的研究が求められていた。本研究成果は、廃棄されるユズ種子が和製の香粧品およびアロマセラピー分野における有用性、機能性を見出し、今後の有望な資材や原料となりうることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Each yuzu fruit contains about 30 seeds, which account for about 20% of the weight of the fruit. Most of the fruit is used for processing, and effective utilization of the seeds has been desired. In this study, we evaluated the functionality of yuzu seeds for use in cosmetic products. Yuzu seed extract contains large amounts of flavonoids and inhibited melanin production in vitro, which causes dark spots and dullness. It also inhibited the degradation of extracellular matrix, which is involved in skin elasticity and firmness, and promoted its production. In particular, the seeds of unripe fruits (green yuzu) have a high content of functional ingredients and several functional properties and it, therefore, was expected to be a promising raw material for cosmetic products.

研究分野：食品学

キーワード：ユズ種子

1. 研究開始当初の背景

アロマテラピーは、日本において着実に底辺の広がりをみせ、補完医療の一つとして地位を築きつつある。しかし、アロマテラピーで使用される精油やキャリアオイル(マッサージトリートメントオイル)などのアロマテラピー資材や香粧品資材のほとんどは外国産である。そのため、われわれ日本人に馴染みの深い、和製のアロマテラピー(香粧品)資材への関心が高まっていると同時に、それらの基礎的研究が求められている。

ユズは代表的な和柑橘の一つとして、日本人に 1,300 年以上親しまれてきた。日本の香酸カンキツ類の中で、ユズ(ミカン科、*Citrus junos Sieb. ex Tanaka*)の生産量は着実に増大し、2010 年には約 20,000 トンに達した。わが国ではユズの利用は、約 1/3 が青果として、残り 2/3 は搾汁・加工用として利用されている。ユズ果実は 1 個当り 30 個前後の種子を含み、その重量は果実重量あたり約 2 割を占める。カンキツ類の中でもこれほど種子の占有率の高いカンキツは希有であり、収集可能なユズ種子は 2,700 トンにもものぼる。さらに、これら種子から搾油・精製した場合、搾油・精製率に基づき、ユズ種子油および精製ユズ種子油の賦存量として、それぞれ 200~300、20~30 トンであると推察される。このように有効な利用資源であるにも関わらず、ほとんどが産業廃棄物として経費をかけ廃棄されてきた。その一方、ユズ生産地では、古くからユズ種子を焼酎に漬け、その抽出液を美容液として活用されており、ユズ種子は香粧品分野への有効性も高いと示唆される。以上、本研究は、廃棄されたユズ種子を和製のアロマテラピー(香粧品)資材としての有効活用を目指した研究である。

2. 研究の目的

筆者らは、これまでユズ種子油の理化学的特性およびヒト皮膚に及ぼす影響などに関する基礎的調査を行ってきた。化学的特徴としてユズ種子油は、淡黄色でわずかなにおいを有し、粘度が 69 mPa・s で伸びのよい粘性を有する半乾性油であり、酸化されにくい油脂であった。また、ヒト皮膚への安全性試験を行い、さらに光毒性物質なども含まれなかった。このことから、ユズ種子油が和製のアロマテラピー・香粧品資材になりうる事が分かってきた。さらに、ユズ種子油の優位性として、ヒト肌の保湿作用およびメラニン生成抑制作用を明らかにしてきた。また同時にユズ種子油は搾油・精製操作により、種子の 1% 程度の収量しか得られない。そこで、香粧品素材として利用可能なエタノールや 1,3-ブタンジオールで抽出した種子エキスの安全性・機能性評価も進めてきた。しかしながら、ユズ種子油や種子エキスが既存の安価な外国産のアロマテラピー・香粧品資材市場に打って勝つためには、ユズ種子油や種子エキスのさらなる優位性や付加価値を美容の観点から見出し、アピールしていく必要がある。これにより、廃棄・未利用資源であるユズ種子の有効活用・利用促進がより一層図られると考える。

ユズは 11 月頃に果実が黄色化して収穫されるが、9 月頃に緑色果(青ユズ)として一定量が、間引きや柚子胡椒などの加工品への利用目的で摘果される。これらの青ユズ種子も廃棄されている。通常、植物未熟果は防御システムとして防御成分(ヒトにおける機能性成分と考えられる)を蓄積することが知られ、実際に青ユズ種子にはリモノイドやフラボノイドなどの有用成分が、黄ユズの 5 倍程度含まれていた。そこで、青ユズ種子も研究対象とする。

ユズ種子および青ユズ種子を研究対象として、種子油および種子エキスのアロマテラピー(香粧品)資材として優位となる基礎的な(in vitro レベル)機能性を解明することを目的とする。機能性評価にあたっては、今日アロマテラピー(香粧品)資材として汎用される資材(グレープシードオイルなど)と比較しながら行う。

3. 研究の方法

ユズ種子は、青ユズと黄ユズ果実から採取し、乾燥させたものを用いた。青ユズおよび黄ユズ乾燥種子を水、50%(v/v) 1、3-ブタンジオール(BG)、もしくはジメチルスルホキシドで抽出した溶液を被検液とした。

総ポリフェノールは Folin-Denis 法、フラボノイド・リモノイド組成は高速液体クロマトグラフィーで測定した。水溶性ペクチンは、カルバゾール硫酸法で測定した。抗酸化活性は、活性酸素種(スーパーオキシドアニオン・DPPH ラジカル)に対する消去能を吸光度法で測定した。抗菌作用は大腸菌 *Escherichia coli* および黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus*、*Cutibacterium acnes* を用いた。肌のシミ・くすみの原因となる酵素チロシナーゼの阻害試験は、マッシュルーム由来の酵素を用いた。メラニン産生抑制試験は、マウス B16 メラノーマ細胞を用いて行った。また、皮膚の水分保持、ハリや弾力性に関与する細胞外基質を生産する線維芽細胞

の増殖試験は、正常ヒト新生児包皮繊維芽細胞を用いて行った。コラーゲン量は、ELISA法で測定した。細胞外基質分解酵素エラスターゼおよびコラーゲナーゼの阻害試験は、それぞれ *Clostridium histolyticum* およびブタ膵臓由来の酵素を用いた。

4. 研究成果

(1) ユズ種子エキスの機能性成分

青ユズ種子エキスは、黄ユズ種子エキスと比べて総ポリフェノール量、主要フラボノイド量、主要リモノイド量、およびペクチン量が有意に高かった。特に、主要フラボノイドは、精製ユズ種子油および香酸カンキツの種子にはほとんど含まれないため、フラボノイドを多く含むことはユズ種子エキスの大きな利点である。

(2) ユズ種子エキスの抗酸化作用

ユズ種子エキスは、スーパーオキシドアニオンや DPPH ラジカルなどの活性酸素種を濃度依存的に消去した。その消去能は、青ユズ種子エキスのほうが、黄ユズ種子エキスと比較して有意に高かった。ユズ種子エキスに含まれるポリフェノール量と抗酸化作用は有意に相関し、消去能の強弱は総ポリフェノール量によることが示唆された。

(3) ユズ種子エキスの抗菌作用

ユズ種子エキスが、グラム陽性細菌である *S. aureus* および *C. acnes* に対して濃度依存的に抗菌活性を示すことを初めて明らかにした。一方、グラム陰性細菌である *E. coli* には抗菌活性を示さなかった。その関与成分として、ユズ種子に含まれるナリンギンやヘスペリジンの可能性が示唆された。

(4) ユズ種子エキスのメラニン産生抑制作用

青ユズおよび黄ユズ種子エキスは、マッシュルーム由来チロシナーゼを有意に阻害した。また、メラノーマ細胞内のチロシナーゼ活性を有意に阻害し、細胞によるメラニン産生を濃度依存的に有意に抑制した。メラノサイトにおいて、活性酸素がメラニン産生を促進することが知られている。このことから、ユズ種子エキスは、活性酸素種を消去、かつチロシナーゼ活性を阻害することによって、シミの原因であるメラニン産生を抑制することが示唆された。

(5) ユズ種子エキスの細胞外基質産生に及ぼす影響

青ユズ種子エキスは、細胞外基質分解酵素であるエラスターゼおよびコラーゲナーゼを有意に阻害した。さらに、ユズ種子エキスは、細胞外基質を生成する線維芽細胞の増殖を濃度依存的に促進し、かつ培養液中に生産されたコラーゲン量も増加傾向であった。このことから、ユズ種子エキスは、細胞外基質分解酵素の阻害により細胞外基質の分解を抑制し、かつ線維芽細胞を増殖促進させることによりコラーゲン等の細胞外基質の産生量を増加させることが期待される。ひいては、肌のハリ・弾力性向上効果が期待される。

(6) 青ユズ種子 50%BG 抽出エキスの有効性

青ユズと黄ユズ種子エキスを比較すると、総ポリフェノール量、主要フラボノイド量、主要リモノイド量、ペクチン量、抗酸化作用、およびエラスターゼ阻害活性において、青ユズが有意に高かった。抽出溶媒（水と 50%BG）を比較すると、50%抽出エキスのほうが主要リモノイド量および抗酸化作用、抗菌作用、チロシナーゼ阻害活性、メラノーマ細胞におけるメラニン産生抑制活性などの機能性が高かった。

以上のことから、ユズ種子エキスは、フラボノイドを含み、シミ・くすみの原因となるメラニン産生を抑制し、肌のハリ・弾力性に関与する細胞外基質の分解抑制および産生促進することから、香粧品原料として有用である可能性が示唆された。特に、青ユズ種子の 50%BG 抽出エキスは、機能性成分含量およびいくつかの機能性が黄ユズ種子と比較して有意に高かったことから、今後の有望な香粧品原料となりうることを期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Takeuchi Hiroaki, Higuchi Keiro, Yoshikane Yu, Takagi Ryo, Tokuhiko Shinji, Takenaka Koichi, Oboshi Wataru, Kimura Asako, Islam Jahirul Md., Kaneko Ayami, Sato Shouichi, Ishizuka Satoshi	4. 巻 12
2. 論文標題 Drinking Refined Deep-Sea Water Improves the Gut Ecosystem with Beneficial Effects on Intestinal Health in Humans: A Randomized Double-Blind Controlled Trial	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 2646
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/nu12092646	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 2. 鈴木 悟, 吉金 優, 中島悦子, 北川（木下）あゆみ, 東谷望史, 沢村正義	4. 巻 20
2. 論文標題 ユズシードオイルおよびキャリアオイル中のフラボノイド・リモノイド類分析	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 アロマセラピー学雑誌	6. 最初と最後の頁 13-21
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.15035/aeaj.200102	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 2. Hiroaki Takeuchi, Yu Yoshikane, Hirotsugu Takenaka, Asako Kimura, Jahirul Md. Islam, Reimi Matsuda, Aoi Okamoto, Yusuke Hashimoto, Rie Yano, Koichi Yamaguchi, Shouichi Sato, Satoshi Ishizuka	4. 巻 12
2. 論文標題 Health effects of drinking water produced from deep sea water: A randomized double-blind controlled trial	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 581
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/nu14030581	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 林田郷子, 難波志帆, 加藤奈々, 芦澤穂波, 木下彰二, 東谷望史, 沢村正義, 吉金 優
2. 発表標題 未利用資源ユズ種子の有効活用を目指した機能解析
3. 学会等名 日本食品科学工学会第68回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 林田郷子, 難波志帆, 大森佳美, 加藤奈々, 芦澤穂波, 木下彰二, 東谷望史, 沢村正義, 吉金 優
2. 発表標題 未利用資源ユズ種子の皮膚細胞に及ぼす影響
3. 学会等名 おかもやまバイオアクティブ研究会第24回学生プレゼンテーション
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関