

蔬果美白活性評估初探

王正隆¹、蔡曄旭²、陳美秀³、鄭智交^{3*}

1. 美和科技大學護理系
2. 高雄市私立立志中學美容科
3. 美和科技大學美容系

摘要

美白化妝品一直都是市場上的熱門暢銷品，尤其是黃種皮膚的國家偏愛淡化膚色或是抑制黑色素，以追求白、透、亮的完美肌膚。現在的消費者為了努力尋找具有抑制黑色素合成之成分也講求「天然」減少化學物質的化妝品對於皮膚的傷害及副作用，最終目的能達到的就是能擁有白皙、透亮的肌膚。天然美白成分的篩選，我們首先鎖定常用的 9 種白色蔬果類包括：白蘿蔔、金針菇、秀珍菇、棗子、檸檬、芭樂、梨子、蓮霧、釋迦等，萃取這些蔬果汁，進行美白活性之之評估。結果顯示，白蘿蔔、檸檬、芭樂效果皆不錯，添加 10% 萃取液幾乎可完全抑制酪胺酸酶之活性。因此，未來我們將針對白蘿蔔、檸檬、芭樂萃取液進一步純化，探討其所含之美白活性成分對皮膚黑色素細胞之影響。

從蔬果中萃取美白有效成分之研究，實為方便有效之方法，可快速找到安全有效之美白成分。以本研究初步結果為例，白蘿蔔之有效美白成分，其實不用太擔心其毒性問題，因此，只需要確認對黑色素細胞是否真能抑制黑色素之生成，以及對皮膚是否有刺激或過敏反應，經安全性評估測試後，即可將此有效的天然美白活性成分應用於化妝品。

關鍵詞：酪胺酸酶、黑色素、白蘿蔔、檸檬、芭樂

一、前言

東方人的膚質屬於偏黃或者是暗沉，而有大多數的女性認為膚質要具有白、透、亮才是最完美的美白肌。人家常說：「一白遮三醜」愛美是女人的天性，不管是男性或是女性，已經開始強調防曬和重視美白這一區塊。而本研究的目的即是探討利用天然的蔬果萃取物來達到肌膚美白功效之可行性！

人類的膚色主要由表皮層的黑色素 (melanin)、真皮層的胡蘿蔔素及血液中的血紅素所決定。其中又以表皮層的黑色素含量影響最大。而黑色素主要由黑色素細胞 (melanocytes) 所合成，其合成過程受到嚴密的調控 (Hearing et al., 1991; Abdel-Malek et al., 1999)。一般而言，黑色素細胞未受刺激時其黑色素產量頗低，但受刺激後其產量會大大的增加甚至高達 100 倍左右 (Pawelek, 1985)。促黑激素 (α-MSH) 及促腎上腺皮質激素 (ACTH) 是人體內主要影響黑色素細胞活性的賀爾蒙，經由接受器 MCR (melanocortin receptor) 的作用，可導致黑色素細胞內 cAMP 的增加、黑色素細胞的增生及黑色素大量的合成 (Suzuki et al., 1996)。此外，由角質細胞 (位於黑色素細胞周圍) 所分泌的細胞激素 (cytokines)，如：生長因子 (growth factors)、prostaglandins、interleukines 及 interferons 等也都會影響黑色素細胞的活性 (Gordon et al., 1989)。而環境因子的刺激例如：皮膚外傷、紫外線照射等等，則可能藉由細胞激素等的分泌，進而促進黑色素細胞的活性，最後造成黑色素大量的形成 (Bologna et al., 1989)。

在黑色素的生合成過程中，酪胺酸 (tyrosine) 首先被酪胺酸酶 (tyrosinase) 氧化成 DOPA (3,4-dihydroxyphenylalanine)，再進一步被酪胺酸酶 氧化成多巴醌 (DOPA-quinone)，接著被氧化成多巴色素 (DOPA-chrome)，再氧化成 5,6-二羥基吲哚 (5,6-dihydroxyindole, DHI)，接著再被酪胺酸酶 氧化成吲哚醌 (indole-quinone)，最後聚合成黑色素 (melanin) (Hearing et al., 1991; Sanchez-Ferrer et al., 1995)。綜觀整個生合成過程，酪胺酸酶 扮演一關鍵性角色，不但參與三個步驟的催化反應，更是生合成第一步驟的關鍵酵素，因此，酪胺酸酶 活性的大小，對黑色素的合成影響甚鉅 (Hearing et al., 1989)。然而，目前美白化粧品的有效成分，例如麴酸 (kojic acid)、熊果素 (arbutin) 及維生素 C 衍生物等，其主要的的作用機轉，便是抑制酪胺酸酶 活性而達到美白之功效 (Maeda et al., 1996)。最近的研究顯示，許多中草藥萃取物中都含有抑制酪胺酸酶 活性的化合物，其中大部分皆屬於酚類化合物 (phenolic compounds) (Shimogaki et al., 2000)。

白蘿蔔含有大量的維他命 C、B1、B2、纖維素和微量的鈣、磷、鐵等元素。蘿蔔味辛甘，性涼，利五臟。宣行氣、化痰、消食，故有其療效。《本草綱目》認為蘿蔔 (又稱萊菔) 能化積滯，是蔬中最有益者。白蘿蔔含有辛辣味的芥子油，可以分解肉類脂肪，芥子油和蘿蔔中的澱粉酶一起互相作用，有促進胃腸蠕動的功效。

檸檬具有強鹼性，被認為是治療疾病的良藥。止咳、化痰、生津健脾，且對於人體的血液循環及鈣質吸收均能發揮作用，並且能有助於糖尿病、高血壓、貧血、感冒、骨質疏鬆症之營養保健。

芭樂的組成分為水分84.1%、蛋白質0.82%、脂肪0.5%、醣類1.41%。果皮可治糖尿病。芭樂纖維最多的是果皮那一層，果皮的維生素C含量也最多。可增加孩子的抵抗力，更是一種天然的鎮定劑，能夠幫助孩子對抗壓力，減少焦慮和不安的情緒，其豐富的維生素C是婦女們的天然美白聖品。

本研究乃針對市售9種蔬果的萃取液，評估比較其抑制酪胺酸酶活性之程度，以評估其萃取液調製為美白化粧品之市場潛力。

二、實驗材料與方法

(一) 蔬果萃取液之製備

本研究所使用蔬果，包括白蘿蔔、金針菇、秀珍菇、棗子、檸檬、芭樂、梨子、蓮霧、釋迦等皆由市場購得後，清洗、晾乾、去皮、絞碎、榨汁，將原液裝入1.5ml離心管離心15分鐘(8000rpm)，離心後取上清液備用。

(二) 萃取液之酪胺酸酶活性影響評估

本研究所使用的材料是鮮榨的蔬果汁。蔬果汁樣品都各取20 μ l放入96孔洞培養皿中，於每個孔洞加入95 μ l的phosphate buffer saline (PBS)，及200 U/ml的酪胺酸酶20 μ l，放入37 $^{\circ}$ C培養箱中反應30分鐘後，以ELISA reader測其在475nm的波長下之基礎吸光值。之後再加入L-dopa 65 μ l，放入37 $^{\circ}$ C培養箱反應30分鐘後，再以ELISA reader測其在475nm的波長下之吸光值，即可由吸光值的變化量得知抑制酪胺酸酶的活性大小(Ishikawa et al. 2007)。

三、結果與討論

(一) 棗子、白蘿蔔萃取液之酪胺酸酶活性影響評估

棗子果肉及白蘿蔔外觀雖然都很白，然而酪胺酸酶活性影響評估結果卻顯示，棗子只有輕微抑制酪胺酸酶活性，而白蘿蔔卻幾乎完全抑制酪胺酸酶活性，詳如圖1 蔬果美白活性評估-1 所示。圖1 中由左至右之評估結果分別為1-basal(反應液中不含酪胺酸酶)、2-control(反應液中含酪胺酸酶不含蔬果萃取液)、3- Δ 475nm(表示control與basal吸光值的差，差值越大表示酪胺酸酶活性越大，dopachrome產生量越多)、4-維生素1000ppm 20 μ l、5-維生素300ppm 20 μ l、6-basal(含棗子萃取液不含酪胺酸酶)、7-control(等酪胺酸酶與L-dopa反應30min後再加入棗子萃取液)、8-棗子20 μ l、9- Δ 475nm(7-control與8-棗子20 μ l吸光值的差，差值越大表示抑制酪胺酸酶活性越明顯，萃取液美白活性越大)、10-basal(含白蘿蔔萃取液不含酪胺酸酶)、11-control(等酪胺酸酶與L-dopa反應30min後

再加入白蘿蔔萃取液)、12-白蘿蔔 20ul、13- Δ 475nm (11-control 與 12-白蘿蔔 20ul 吸光值的差, 差值越大表示抑制酪胺酸酶活性越明顯, 萃取液美白活性越大)。由 13- Δ 475nm 顯示, 白蘿蔔抑制酪胺酸酶活性效果最佳, 幾乎完全抑制, 表示其美白潛力頗佳。而棗子也有明顯的酪胺酸酶活性抑制效果。

(二) 秀珍菇、金針菇萃取液之酪胺酸酶活性影響評估

秀珍菇及金針菇外觀也都很白, 而酪胺酸酶活性影響評估結果如圖 2 蔬果美白活性評估-2 所示。圖 2 中由左至右之評估結果分別為 1-basal(反應液中不含酪胺酸酶)、2-control(反應液中含酪胺酸酶不含蔬果萃取液)、3- Δ 475nm (表示 control 與 basal 吸光值的差, 差值越大表示酪胺酸酶活性越大, dopachrome 產生量越多)、4-維生素 1000ppm 20 ul、5-維生素 300ppm 20ul、6-basal (含秀珍菇萃取液不含酪胺酸酶)、7-control(等反應完成後再加入秀珍菇萃取液)、8-秀珍菇 20ul、9- Δ 475nm (7-control 與 8-秀珍菇 20ul 吸光值的差)、10-basal (含金針菇萃取液不含酪胺酸酶)、11-control (等反應完成後再加入金針菇萃取液)、12-金針菇 20ul、13- Δ 475nm (11-control 與 12-金針菇 20ul 吸光值的差)。由 9- Δ 475nm 顯示, 秀珍菇抑制酪胺酸酶活性效果優於金針菇 13- Δ 475nm, 表示其美白潛力較佳。

(三) 檸檬、芭樂萃取液之酪胺酸酶活性影響評估

檸檬及芭樂都富含維生素 C, 其萃取液對酪胺酸酶活性影響評估結果如圖 3 蔬果美白活性評估-3 所示。圖 3 中由左至右之評估結果分別為 1-basal(反應液中不含酪胺酸酶)、2-control(反應液中含酪胺酸酶不含蔬果萃取液)、3- Δ 475nm (表示 control 與 basal 吸光值的差)、4-維生素 1000ppm 20 ul、5-維生素 300ppm 20ul、6-basal (含檸檬萃取液不含酪胺酸酶)、7-control(等反應完成後再加入檸檬萃取液)、8-檸檬 20ul、9- Δ 475nm (7-control 與 8-檸檬 20ul 吸光值的差)、10-basal (含芭樂萃取液不含酪胺酸酶)、11-control (等反應完成後再加入芭樂萃取液)、12-芭樂 20ul、13- Δ 475nm (11-control 與 12-芭樂 20ul 吸光值的差)。由 9- Δ 475nm 及 13- Δ 475nm 顯示, 檸檬及芭樂抑制酪胺酸酶活性效果都非常好, 幾乎完全抑制, 表示其美白潛力頗佳。

(四) 梨子、蓮霧及釋迦萃取液之酪胺酸酶活性影響評估

梨子、蓮霧及釋迦其萃取液對酪胺酸酶活性影響評估結果如圖 4 蔬果美白活性評估-4 所示。圖 4 中由左至右之評估結果分別為 1-basal (含梨子萃取液不含酪胺酸酶)、2-control(等反應完成後再加入梨子萃取液)、3-梨子 20ul、4- Δ 475nm (2-control 與 3-梨子 20ul 吸光值的差)、5-basal (含蓮霧萃取液不含酪胺酸酶)、6-control (等反應完成後再加入蓮霧萃取液)、7-蓮霧 20ul、8- Δ 475nm (6-control 與 7-蓮霧 20ul 吸光值的差)、9-basal

(含釋迦萃取液不含酪胺酸酶)、10-control(等反應完成後再加入釋迦萃取液)、11-釋迦 20ul、12- Δ 475nm (10-control 與 11-釋迦 20ul 吸光值的差)。由 4- Δ 475nm、8- Δ 475nm 及 12- Δ 475nm 顯示，梨子、蓮霧及釋迦抑制酪胺酸酶活性效果都不佳，其中梨子幾乎沒有抑制作用。

(五)9 種蔬果萃取液之美白功效評估

將 9 種蔬果萃取液對酪胺酸酶活性抑制百分比做為美白功效指標，以美白功效% 表示之，結果如圖 5 所示。蔬果汁萃取液之美白功效排序為白蘿蔔、檸檬、芭樂、秀珍菇、釋迦、棗子、金針菇、蓮霧、梨子。此為初步結果，純蔬果汁作用並未換算成每公克蔬果的美白活性，所以，只是顯示其美白活性潛力，而非美白蔬果排名。若要作出美白蔬果排名，還得進行黑色素細胞活性影響評估，並需換算成每公克蔬果之美白功效，如此才比較客觀。

四、結論

本研究初步結果顯示，白蘿蔔、檸檬、芭樂蔬果汁美白功效皆具潛力，添加約 10% 蔬果汁至酪胺酸酶反應系統中，幾乎可完全抑制酪胺酸酶之活性。因此、未來我們將針對白蘿蔔、檸檬、芭樂蔬果汁進一步純化萃取，探討其所含之美白活性成分對皮膚黑色素細胞之影響。

從蔬果中萃取美白有效成分之研究，實為方便有效之方法，可快速找到安全有效之美白成分。以本研究初步結果為例，白蘿蔔之有效美白成分，其實不用太擔心其毒性問題，因此，只需要確認對黑色素細胞是否真能抑制黑色素之生成，以及對皮膚是否有刺激或過敏反應，經安全性評估測試後，即可將此有效的天然美白活性成分應用於化妝品。

五、參考文獻

- Abdel-Malek, Z., Suzuki, I., Tada, A., Im, S. and Acali, C. (1999)**The Melanocortin-1 receptor and human pigmentation. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 885: 117-133.
- Bologna, J., Murrat, M., and Pawelek, J (1989)** UVB induced melanogenesis may be mediated through the MSH receptor system. *J. Invest. Dermatol.* 92, 651-656.
- Gordon, P. R., Mansur, C. P. and Gilchrest, B. A (1989)** Regulation of human melanocyte growth dendricity, and melanization by keratinocyte derive factors. *J. Invest. Dermatol.* 92, 565-572.
- Hearing, V. J. and Tsukamoto, K. (1991)** Enzymatic control of pigmentation in

mammals. *FASEB. J.* 5: 2902-2909.

Ishikawa, M., Kawase, I., Ishi, F. (2007). Combination of amino acids reduces pigmentation in B16F0 melanoma. *Cells Biol. Pharm. Bull.*, 30,677-681.

Maeda, K. and Fukuda, M. (1996) Arbutin : mechanism of its depigmenting action in human melanocyte culture. *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 276: 765-769.

Pawelek, J. M. (1985) Studies on the Cloudman melanoma cell line as a model for the action of MSH. *Yale J. Biol. Med.* 58, 571-578.

Sanchez-Ferrer, A., Rodriguez-Lopez, J. N., Garcia-Canovas, F. and Garcia-Carmona, F. (1995) Tyrosinase: a comprehensive review of its mechanism. *Biochim. Biophys. Acta* 1247: 1-11.

Shimogaki, H., Tanaka, Y., Tamai, H. and Masuda, M. (2000) In vitro and in vivo evaluation of ellagic acid on melanogenesis inhibition. *Int. J. Cosmetic Sci.* 22: 291-303.

Suzuki, I., Cone, S. M., Nordlund & Z. Abdel-Malek. (1996). Binding capacity and activation of the MC1 receptors by melanotropic hormones correlate directly with their mitogenic and melanogenic effects on human melanocytes. *Endocrinology* 137:1627-1633.

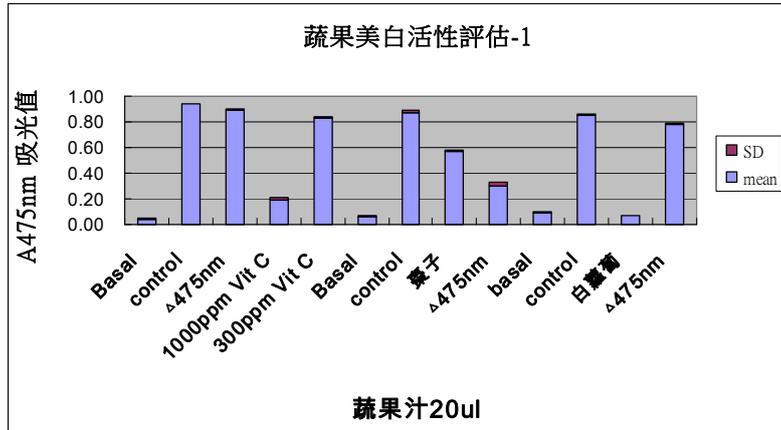


圖 1. 蔬果美白活性評估-1

將棗子及白蘿蔔萃取液 20 ul，加入反應液中與酪胺酸酶先溫浴 30 分鐘，再加入 L-dopa 反應 30 分鐘後，測其 A475 nm 吸光值，顯示反應液中 dopachrome 之含量，以評估其黑色素合成量，data 為 mean±SD. (n=3)。

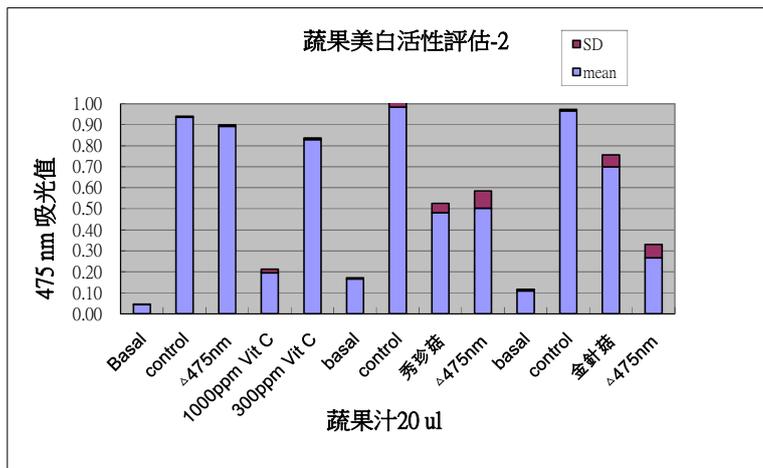


圖 2 蔬果美白活性評估-2

將秀珍菇及金針菇萃取液 20 ul，加入反應液中與酪胺酸酶先溫浴 30 分鐘，再加入 L-dopa 反應 30 分鐘後，測其 A475 nm 吸光值，顯示反應液中 dopachrome 之含量，以評估其黑色素合成量，data 為 mean±SD. (n=3)。

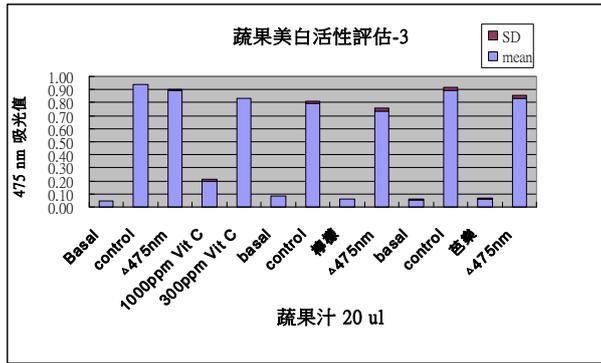


圖 3 蔬果美白活性評估-3

將檸檬及芭樂萃取液 20 uL，加入反應液中與酪胺酸酶先溫浴 30 分鐘，再加入 L-dopa 反應 30 分鐘後，測其 A475 nm 吸光值，顯示反應液中 dopachrome 之含量，以評估其黑色素合成量，data 為 mean±SD. (n=3)。

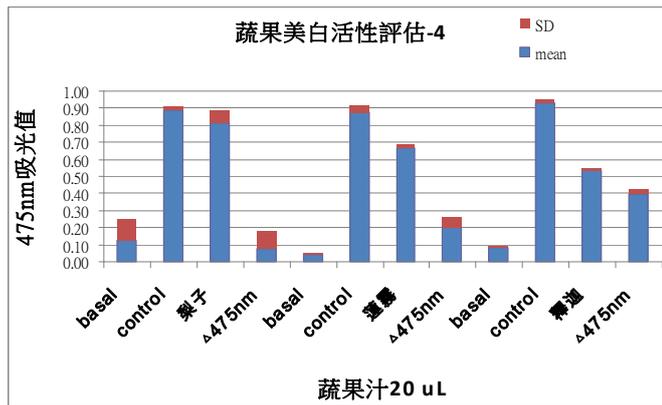


圖 4 蔬果美白活性評估-4

將梨子、蓮霧及釋迦萃取液 20 uL，加入反應液中與酪胺酸酶先溫浴 30 分鐘，再加入 L-dopa 反應 30 分鐘後，測其 A475 nm 吸光值，顯示反應液中 dopachrome 之含量，以評估其黑色素合成量，data 為 mean±SD. (n=3)。

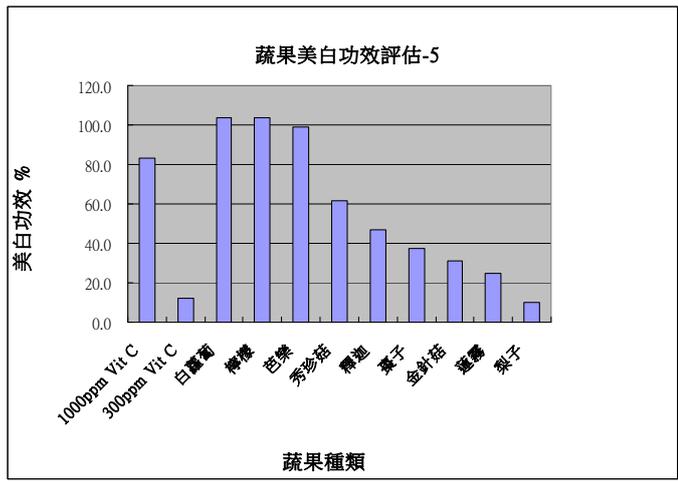


圖 5 蔬果美白活性評估-5

將 9 種蔬果萃取液對酪胺酸酶活性抑制百分比做為美白功效指標，以美白功效% 表示之。