

竹炭浸漬液の生体内脂質過酸化の抑制効果

辻原 命子・石山 絹子・福田 靖子

Water Extract of Bamboo charcoal and its Inhibitory Effects on Lipid Peroxidation in Rats

Nobuko TSUJIHARA, Kinuko ISHIYAMA and Yasuko FUKUDA

緒 言

炭は、古来より日本人の生活の中で熱源を初めとし、種々利用され続けてきた生活素材であり、食品の分野をはじめ、工業的にもさまざまに利用されてきている。近年、科学技術の進歩により、熱源として炭の利用が減少してきたため、新たな用途として木材を炭化させた「炭」は、炊飯米に添加した場合、味の向上やフライに添加すると、からっと仕上がるなど調理学的な効果が話題にされている^{1), 2)}。また炭は、消臭・脱色・抗菌・浄化作用をはじめミネラル水、木酢、竹酢液などの効用もうたわれている³⁾。さらに、既存添加物（植物炭末色素:着色料〔黒色〕）や胃腸薬として実際に利用されてきている。しかし、これら炭の生体におよぼす影響についての報告はほとんどないため、今回は生体における抗酸化性について検討した。

そこで炭の材料として、古来より建築材、家具、調理器具ならびに楽器など生活用具としてさまざまに利用されてきている竹を用いることとした。竹は里山に生育し、近年、石油化学工業の発展とともにその需要が減少し、竹の森林への侵食などもあることから竹炭への利用を考えた。そして本実験では、竹炭の飲み水および調理水への利用を目的に、竹炭浸漬液を調製した。今回用いる竹炭浸漬液の浸漬液中の無機イオン類の安全性は確認されており、水道水の基準はクリアしている。無機イオン類を多く含んだ竹炭浸漬液を、飲水としてラットに投与した場合の生体におよぼす影響について、栄養学的または生理学的に追求して、竹炭浸漬液の利用の拡大をはかることを目的とした。

実験方法

1. 実験に供試した竹炭浸漬液の調製

高温電気炉（光洋リンドバーク社製）を用い、窒素充填下 800°Cで炭化させて作成した竹炭は、電気抵抗が少なく（48.7±15.0Ω）、導電率 23.00mS/m と通電性の良いことが確認されている¹⁾。この通電炭である竹炭（静岡県林業技術センター作成）を長方形（20mm×65mm）角のブロック状にし、蒸留水で洗浄した後、乾燥してから蒸留水に24時間浸漬して得られたものを竹炭浸漬液とした。この浸漬液は、調製後ただちに窒素ガスを充填し、pH（pH9.0～9.2）の低下を防止して保存したものを飲水として供試した。

2. 実験動物の飼育条件

6週齢 (体重 150-160g) の Wistar 系雄ラット (日本エスエルシー (株), 浜松市) を用いた。ラットは対照群 (CRL), 10% 竹炭浸漬液群 (CH-10%), 2% 竹炭浸漬液群 (CH-2%) の3群に分けた。飼料は標準粉末飼料 CE-2 (日本クレア (株) 製) を自由摂取とし, 各群ステンレス製の個別ケージを用い, 実験環境にならすため5日間予備飼育をした後, 実験を開始した。飼育期間中, 週2回体重を測定し, 飼料摂取量は毎日の投与量より残存量を差し引いて算出した。飲水は, 対照群には蒸留水を, 他の2群には10% 竹炭浸漬液および2% 竹炭浸漬液をそれぞれ50mL/匹/日ずつ経口的に投与した。飼育環境は, 室温 $23 \pm 1^\circ\text{C}$, 相対湿度 $55 \pm 5\%$, 1日12時間の採光下 (7:00a.m. ~ 7:00p.m. 明所) の条件とし, 2週間飼育した。

3. 臓器の摘出と血清分離

飼育終了後, 軽いエーテル麻酔を施して, ラットを解剖し, 採血した後肝臓および腎臓を摘出して湿重量を求めた。組織は還流した後, 生理食塩水で洗浄し, -80°C のフリーザー (SANYO MDF-192) に保存した。血液は採血後, 30分間室温に放置した後3,000r.p.m. で10分間遠心分離 (KUBOTA KC-70) してその上清を血清サンプルとした。

4. 血清成分の分析

血清の総コレステロールは和光純薬工業 (株) のキット試薬, コレステロールE テストワコー (コレステロールオキシダーゼ・DAOS法) を用いた。トリグリセリドは (株) アズエルのネスコート TG キット -GN (L-グリセロール 3-リン酸オキシダーゼ・酵素法) を用いて測定し, チオバルビツール酸 (TBA) 反応陽性物質 (TBARS) は, 内藤ら⁴⁾ の方法により求めた。

5. 肝臓および腎臓のチオバルビツール酸反応陽性物質 (TBARS) の測定

凍結 (-80°C) 保存しておいた臓器 (肝臓および腎臓) を 3mM- トリス塩酸バッファ (3mM-Tris, 0.25M- ショ糖, 0.1mM-EDTA pH7.4) を用いて10%ホモジネートとし, 血清と同様に内藤ら⁴⁾ の方法に従って測定した。

6. 統計処理

t検定を用い, 群間の有意差 ($p < 0.01$, $p < 0.05$) 検定をおこなった。

結 果

1. 体重の増加状況および平均飼料摂取量

体重は Fig.1に, 平均飼料摂取量は Fig.2に示した。体重は, 対照群 (CRL), 10% 竹炭浸漬液群 (CH-10%) および2% 竹炭浸漬液群 (CH-2%) の3群間に有意差はなく, 3群とも生育は順調であった。また平均飼料摂取量は, 飼育1週目, 2週目とも対照群 (CRL) と竹炭浸漬液群間に有意差はなく, 飼育期間中の3群の平均摂取量は, 22.0g から 26.7g の範囲であった。

2. 平均飲水量

平均飲水量は Fig.3に示した。平均飼料摂取量と同様に飲水量も飼育1週目, 2週目とも群間に有意差がなく, 飼育期間中の平均飲水量は, 対照群 (CRL) 37.8mL ~ 45.0mL/匹/日

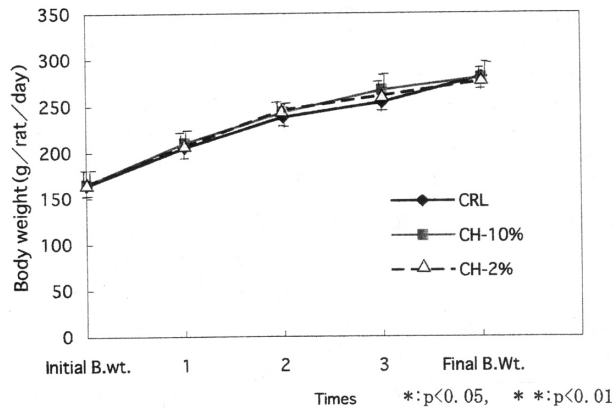


Fig.1 Effect of minerals in soaking water from bamboo charcoal on body weight of rats. Values are mean SEM of five rats per group.

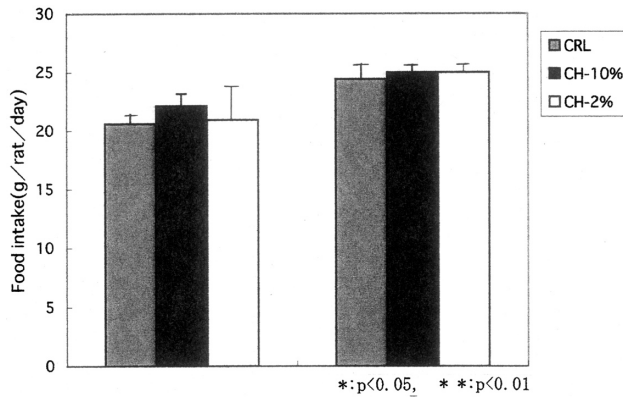


Fig.2 Effect of minerals in soaking water from bamboo charcoal on food intake of rats. Values are mean SEM of five rats per group.

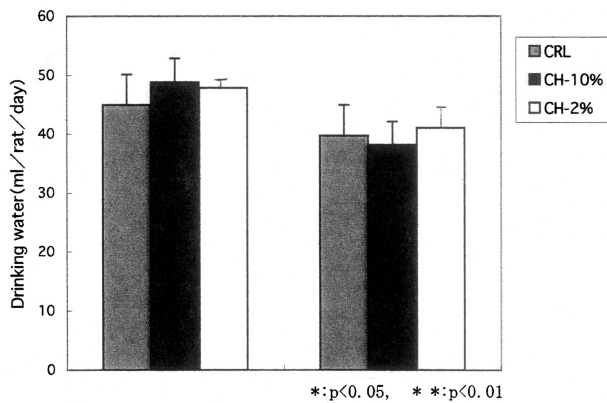


Fig.3 Effect of minerals in soaking water from bamboo charcoal on drinking water of rats. Values are mean SEM of five rats per group.

で、10%竹炭浸漬液群 (CH-10%) は 38.1mL ~ 48.9mL/匹/日、2%竹炭浸漬液群 (CH-2%) は 39.3mL ~ 47.9mL/匹/日となった。飲水として用いた竹炭浸漬液は、pH9.0~9.2で K^+ を多く含有しており、水道水 (pH6.8~6.9) に比較すると pH はアルカリ性である。しかし、飲水としての安全性 (水道水の基準はクリア) については、前述のとおり確認されており、蒸留水投与群 (対照群) と竹炭浸漬液投与群 (CH-10%および CH-2%) 間に飲水量の差が認められなかったこと、さらに飼育期間中、ラットの生体への影響は何らみられなかったことから、飲水として利用しても問題ないものと思われた。

3. 血清成分の変化

血清の総コレステロール (T-chol) およびトリグリセリド (TG) 値は、それぞれ Fig.4および Fig.5に示した。血清の総コレステロール値は、10%竹炭浸漬液群 (CH-10%) および2%竹炭浸漬液群 (CH-2%) が、対照群 (CRL) に比べて有意 ($p < 0.05$) に減少した。

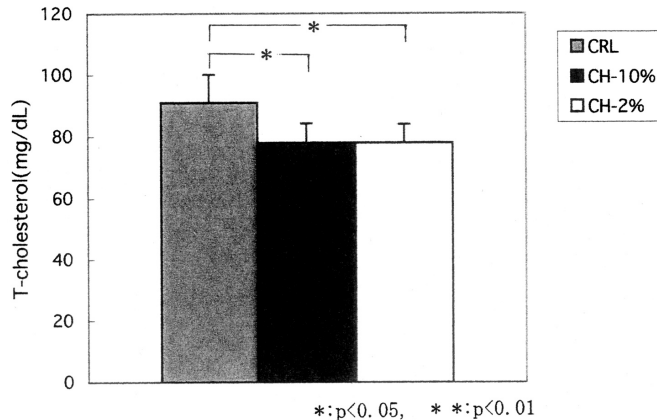


Fig.4 Effect of minerals in soaking water from bamboo charcoal on total-choeserol level in serum of rats. Values are mean SEM of five rats per group.

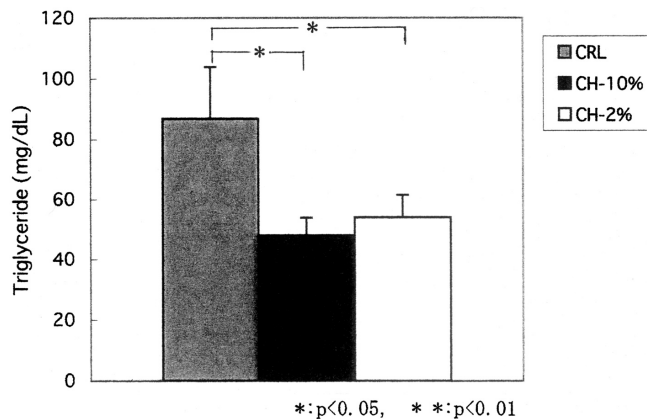


Fig.5 Effect of minerals in soaking water from bamboo charcoal on triglyceride level in serum of rats. Values are mean SEM of five rats per group.

またトリグリセリド値も総コレステロール値と同様に、対照群（CRL）に比し、10%竹炭浸漬液群（CH-10%）および2%竹炭浸漬液群（CH-2%）で、有意（ $p < 0.05$ ）に低値を示した。チオバルビツール酸（TBA）反応陽性物質（TBARS）はFig.6に示した。対照群に比べて、竹炭浸漬液群が減少傾向であったが、群間に有意な差は認められなかった。

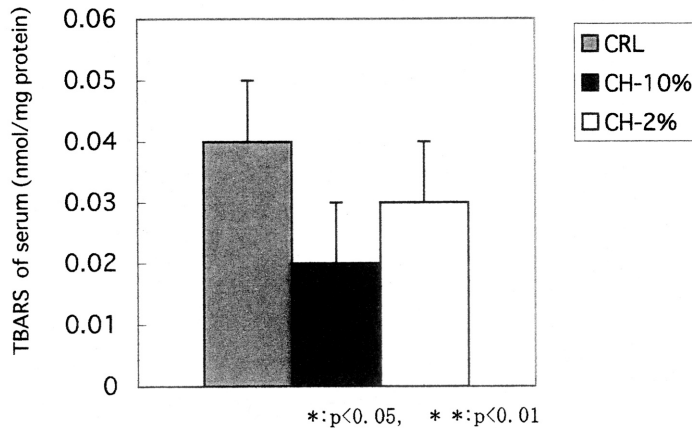


Fig.6 Effect of minerals in soaking water from bamboo charcoal on TBARS level in serum of rats. Values are mean SEM of five rats per group.

4. 肝および腎組織のチオバルビツール酸反応陽性物質（TBARS）の変化

肝臓のTBA反応陽性物質（TBARS）はFig.7に示した。対照群（CRL）に比べて、竹炭浸漬液投与群が低値となり、とくに10%竹炭浸漬液群（CH-10%）で有意（ $p < 0.05$ ）に減少した。腎臓のTBARSはFig.8に示したとおり腎臓のTBARSは対照群（CRL）、10%竹炭浸漬液群（CH-10%）および2%竹炭浸漬液群（CH-2%）の3群間に有意差はみられなかったが、CH-10%群がわずかに低下の傾向を示した。

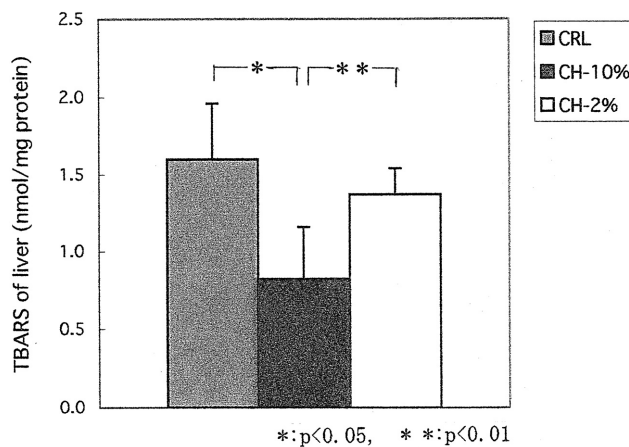


Fig.7 Effect of minerals in soaking water from bamboo charcoal on TBARS level in liver of rats. Values are mean SEM of five rats

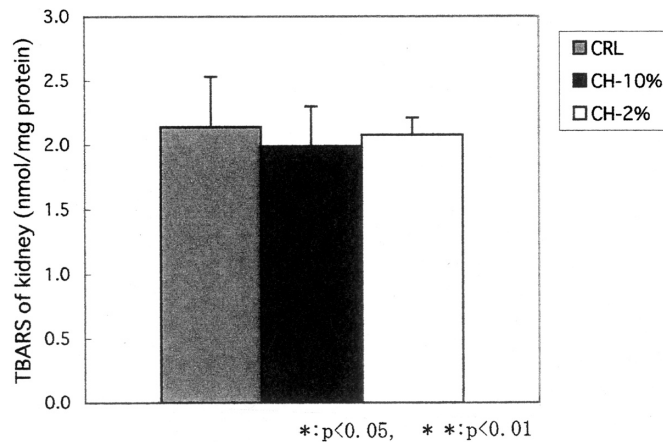


Fig.8 Effect of minerals in soaking water from bamboo charcoal on TBARS level in kidney of rats. Values are mean SEM of five rats per group.

考 察

水に多く含まれているミネラルには、カルシウム、マグネシウム、ナトリウム、鉄、マンガンなどがあり、水の味を左右する重要な成分である。微量の硬度成分は水に味を与え、むしろ好まれるが、含有量の多い硬水は飲料水として不適當であり、ヒトが飲料水とした場合、下痢を起こしたり、味の特異性のため調理・加工には好ましくない水とされている⁵⁾。本実験に用いた竹炭浸漬液には、 Ca^{2+} (0.2mg/L)、 Mg^{2+} (0.19mg/L)、 SO_4^{2-} (0.2mg/L) が含まれとくに K^+ (74mg/L) が多量含まれている。さらにその他の元素として、Fe が約 0.3mg/L 以下、Mn, Zn, Cu がそれぞれ 0.1~0.2mg/L 内外含まれ (株) 富士電化環境センター分析) ている¹⁾。ラットに投与した 10% および 2% 竹炭浸漬液は、前述したように水道水の基準はクリアしており、飼育期間中、ラットの成長に何ら影響がなかったことから、飲水として摂取上の問題はなかったものと判断した。また橋本⁶⁾によれば、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 SiO_2 は水の味をよくし、 Mg^{2+} 、 SO_4^{2-} は味を悪くする。また、長寿の地域と短命の地域との飲料水を比較し、 Ca^{2+} は多いほど、 Na^+ は少ないほど健康によいと述べている。今回供試した竹炭浸漬液は、 K^+ が多く含まれ、名水の条件にカリウムが含まれることから、飲水としては良い条件と思われたが、ラットの場合、蒸留水投与の対照群 (CRL) と比較して特に好まれるということではなかった。次に血清脂質成分への影響であるが、Schroeder⁷⁾ (1960) はアメリカ 49 州の飲料水の硬度と循環器疾患について調査し、水の硬度と死亡率は負の相関関係であったと報告した。つまり、水の硬度の高い地域では、脳卒中のみならず、虚血性心疾患 (心筋梗塞) による死亡率が低いということである。このことは、Gray⁸⁾ (1994) によっても同様に報告されている。今回の実験でも、血清の総コレステロールならびにトリグリセリドが、対照群に比べて、10% 竹炭浸漬液群と 2% 竹炭浸漬液群で有意 ($p < 0.05$) に低下し、Schroeder の疫学調査結果とほぼ一致した。なぜならば、心筋梗塞はコレステロールなどの脂質が動脈壁に沈着して発症する動脈硬化がその主因であり、血清脂質の改善は、これらの疾病の予防になるからである。このことから、今回実験に用いた竹炭浸漬液中に含まれる無機の陽イオン類が、脂質代謝改善に寄与した可能性も考えられるが、その要因についてはさらに検討をしなければならない。また Schroeder⁷⁾ の調査に

より,” 硬い水は血管を軟らかくする “ということで, 飲料水に注目するきっかけをつくった。さらに生体内脂質過酸化への影響についてであるが, 血清の TBA 反応陽性物質は, 10%竹炭浸漬液群が群間で最も低値となり, 肝組織の TBA 反応陽性物質も対照群に比べて有意 ($p < 0.05$) に低下したことから, 竹炭浸漬液による過酸化脂質の抑制効果も期待できるものと思われる。今回供試した竹炭浸漬液についてさらに検討を重ね, 飲料水すなわち新規のミネラルウォーターとして, また, 調理・加工水としてその利用の拡大をはかることが今後の研究課題である。

要 約

古来より炭は, 熱源をはじめ, 添加物や胃腸薬など多岐にわたり利用されてきた。さらに近年, 新たに炭の調理学的効果として炊飯米の味の向上やてんぷら油の酸化防止効果^{1), 2)} など, 種々見出されている。本実験では, 生活具として利用が減少し, 森林への侵食が懸念される竹の利用拡大のために, 竹炭から K^+ をはじめ, Ca^{2+} や Mg^{2+} などをはじめ多くの微量元素を含む竹炭浸漬液 (pH9.0~9.2) を調製してラットに飲水として投与し, 生体内脂質過酸化物への影響をしらべた。

1. 飼育期間中, 竹炭浸漬液投与によるラットの平均体重および平均飼料摂取量への影響は何らみられなかった。
2. 飲水量も群間に有意差はなく, 対照群 (CRL) に比べて 10%竹炭浸漬液群 (CH-10%) および 2%竹炭浸漬液群 (CH-2%) がわずかに増加の傾向を示した。
3. 血清総コレステロール (T-chol) は, 対照群 (CRL) に比べて, 10%竹炭浸漬液群 (CH-10%) および 2%竹炭浸漬液群 (CH-2%) が有意 ($p < 0.05$) に低下した。
4. 血清トリグリセリドは, 10%竹炭浸漬液群 (CH-10%) および 2%竹炭浸漬液群 (CH-2%) が有意 ($p < 0.05$) に低下し, 対照群の 1/2 のレベルまで低下した。
5. TBA 反応陽性物質 (TBARS) は, 肝組織で 対照群 (CRL) に比べて 10%竹炭浸漬液群 (CH-10%) が最も低値 ($p < 0.05$) となり, 次いで 2%竹炭浸漬液群 (CH-2%) が有意 ($p < 0.01$) に低下傾向がみられた。血清の TBA 反応陽性物質 (TBARS) は 10%竹炭浸漬液群 (CH-10%) $<$ 2%竹炭浸漬液群 (CH-2%) $<$ 対照群 (CRL) の順となったが, 群間に有意差を認めるほどではなかった。

なお, 本実験の一部は, 日本食品科学工学会第 50 回大会 (平成 15 年 9 月 13 日 於: 東京農業大学) で発表した。

本研究を行うにあたり, 所定の炭化温度の竹炭を作成していただきました静岡県林業技術センター, 溝口 忠氏に感謝の意を表します。

文 献

- 1) 貝沼やす子, 福田靖子: 竹炭による米飯の性状改善効果, 日本調理科学会誌, **35**, 2, 139-146 (2002)
- 2) 福田靖子, 大石友子, 貝沼やす子, 溝口 忠: 油によるフライ油の熱酸化防止効果, 食品科学工学会誌, **48**, 2, 105~111 (2001)

- 3) 炭やきの会編：環境を守る炭と木酢液, p.32, 家の光協会 (1991) 東京
- 4) 内藤周幸, 山中 健:動脈硬化性疾患と過酸化脂質, 日本老年医学会誌, 15, 187-191 (1978)
- 5) 野口 駿：水の液性と溶解成分の作用, 食品と水の科学, 84, 幸書房 (1992)
- 6) 橋本 奨：化学と生物, 26, 65-68(1988)
- 7) Schroeder, H.A. : *JAMA*, 172, 1902-1908(1960)
- 8) Gray, N.F.: *Drinking Water Quality*, John Wiely & Son's, 159(1994)

Abstract

The purpose of this study was investigate whether the water in which charcoal (CH) had been immersed had inhibitory effects on lipid peroxidation in rats. Six-week-old male Wistar rats (Japan SLC Inc., Hamamatsu) were allocated to three groups. The rats were given as drinking water, the water after immersion of charcoal diluted 10% (CH-10%) or 2% (CH-2%), or tap water (control group) at the rate of 50ml/rat/day. All the animals were fed a commercial diet (CE-2; Clea Japan Inc., Tokyo). After 14 days on these regimens, they were fasted for 10h. On the 15th day, under ether anesthesia, their blood was collected, and their liver and kidney tissues were removed. The tissues and the serum obtained after centrifugation of the blood at 3,000 r.p.m for 10 min were stored at -80°C until assay.

Serum TBARS, total-cholesterol, triglyceride, liver TBARS and kidney TBARS were then determined. The serum total-cholesterol concentrations in the CH-10% and CH-2% groups were decreased significantly as compared with the control group. The serum triglyceride levels in the CH-10% and CH-2% groups were reduced significantly as compared with the control group. The serum TBARS levels in the CH-10% and CH-2% groups tended to be lower than that in the control group. The TBARS levels in liver of the rats in the CH-10% and CH-2% groups were decreased significantly as compared with those in the control group. These results suggest that water in which charcoal had been immersed is very effective for inhibiting lipid peroxidation when given as drinking water.

日本語訳

竹炭浸漬液 (CH) のラットの脂質過酸化生成抑制効果を目的とした実験である。6週齢のウイスター系雄ラット (日本エスエルシー株式会社) を用い、対照群、10%竹炭浸漬液群、2%竹炭浸漬液群の3群に分けた。飼料は日本クレア株式会社製の標準粉末飼料 CE-2を用い、2週間飼育した。飲水は、対照群 (CRL) には蒸留水を、10%竹炭浸漬液群 (CH-10%) には、竹炭 10%を蒸留水に浸漬した竹炭浸漬液を、2%竹炭浸漬液群 (CH-2%) には、竹炭 2%を蒸留水に浸漬した竹炭浸漬液をそれぞれ 50mL/匹/日投与した。飼育終了後、10時間絶食にした後軽いエーテル麻酔を施し、血液を採取、肝臓および腎臓を摘出して供試するまで -80°Cに保存した。血液は 3,000r.p.m. で10分間遠心分離して血清を得た。

血清の TBA 反応陽性物質、総コレステロール濃度、トリグリセリド値、肝臓および腎臓の TBA 反応陽性物質の測定をした。血清総コレステロール濃度は、対照群に比べて、CH-10%群および CH-2%群が有意に低下した。血清トリグリセリド値は、対照群に比べて CH-10%群と CH-2%群で有意に減少した。CH-10%群および CH-2%群の血清の TBA 反応陽性物質は、対照群に比べて低下の傾向を示した。肝臓の TBA 反応陽性物質は、対照群に比べて CH-10%群と CH-2%群で有意に低下した。これらの結果より、竹炭浸漬液は、飲料水としてきわめて有効であることが示唆された。