

飲用アルカリ性電解水の長期飲用による生体内脂質過酸化の低減化

早川享志^{1,2,3}、佐古 匡¹、Zhang Guihong²、松岡琢磨²、嶋倉崇雄²、富田幸希³、
寺澤佳織⁴、平松健太³、中川智行^{1,2,3}、柘植治人^{2,3}

¹ 岐阜大学大学院応用生物科学研究科、² 岐阜大学大学院農学研究科、

³ 岐阜大学農学部、⁴ 岐阜大学応用生物科学部

2011.9.15 受付、2012.3.13 受理

アルカリイオン整水器で調製した飲用アルカリ性電解水 (AEW ; pH9.6) を長期飲用した場合の生体内脂質過酸化の低減化効果について Wistar/ST 系ラットに通常脂質含量と高脂質含量の飼料を投与して比較検討した。まず、血漿と肝臓のチオバルビツール酸陽性物質 (TBARS) 値を高める飼料条件として、市販の MF 飼料 (MF ; 脂質含量 5%) に過酸化大豆油を添加して脂質含量を 25%とした飼料 (25MF) を設定した (Exp. 1)。次いで、飼料として MF と 25MF、試験水として TW (pH7.0 ; 未電解の浄水) と AEW を組合せた 4 群のラットを設け、2 ヶ月飼育し AEW の飲用効果について検討した。その結果、血漿と肝臓の TBARS 値は、AEW 飲用群で低減化が見られ、特に高脂質飼料の場合において低減化効果の強いことが明らかとなった。一方、腎周囲脂肪重量は AEW 飲用による低減化がみられ、肝臓の総グルタチオンと血漿アディポネクチンは AEW による増加効果が見られた。以上のように、AEW の飲用効果は高脂質飼料条件下において顕著であり、生体内の抗酸化環境を増強していることが推測された。

キーワード： 飲用アルカリ性電解水、ラット、チオバルビツール酸陽性物質、脂質過酸化

緒言

水は動植物にとって必須であり、ヒトにとっては食事と同じく欠くことはできない食事成分である。水に何らかの機能を付与する方法として電気分解が試みられ、最初、農業方面に利用されたが、やがてヒトの健康を意識した医療的な用途も開拓され、1966 年に厚生省により医療用物質生成器として飲用アルカリ性電解水 (AEW : potable alkaline electrolized water、通称アルカリイオン水) を生成するアルカリイオン整水器が認証された¹⁾。当初は、陰極に生成する水酸化カルシウムについて日本薬局方の解釈から、制酸や胃酸過多などの効能が謳われたといわれている²⁾。1990 年代に入ると食品分野では機能性を付与した食品が開発され特定保健用食品として健康を維持するための機能性食品として広まったが、同時に水に対する関心も高まった。そうした中、付加価値を持った水として AEW への関心が高まり、アルカリイオン整水器

の普及に拍車がかかった。しかし、AEW の効能を科学的に裏付ける知見は乏しかったことからいろいろな基礎的研究が始まった¹⁾。我々はラットを用いた研究で、高発酵飼料条件下での AEW 摂取は、腸内発酵に抑制的に働くこと、腸内細菌叢への影響はあまり大きくはなく、乳酸菌やビフィズス菌の生育が盛んであるが、嫌気性菌の検出頻度が若干高いことなどを明らかにした²⁾。また、予め AEW を継続飲用したラットでは、アスピリンや虚血再還流により惹起される胃粘膜障害が軽減されることも報告³⁾されるなど、AEW の有効性の一端が動物試験により明らかにされた。さらに、ヒトにおける厳密な比較臨床試験の結果、AEW は便秘や慢性下痢の改善など軽度な胃腸障害改善に有効であることが明らかにされた⁴⁾。AEW の効果は何によるのかは未だ明らかではないが、その特性として溶存水素が豊富になることが注目されるとともに、これまで得られた生理効果以外の効果についても検証が

進みつつある。我々は、AEW を長期飲用したラットにおいて血漿の脂質過酸化度が低減化することを見出したことをきっかけに生体内脂質過酸化の低減化に対する AEW の効果について検証するために本実験を行った。

材料および方法

1. 過酸化油の調製

今回の実験では、生体内での脂質過酸化を高めた状態で AEW の飲用効果を比較することを目的として飼料への油脂の添加を高めた条件下で比較する系も設けた。しかし、市販の油脂には天然の抗酸化物質が含まれているので、その効果を無効化するために予め添加油脂を加熱により過酸化物質 (POV) を高めた (抗酸化物質の効果を無効化した) 油脂を調製した。すなわち、大豆油をビーカーに入れ、恒温槽 (Yamato Shaking Bath BW 200) で 80°C に保って大豆油を酸化させた。経目的に POV を測定し、過酸化物質 POV 100 程度の過酸化大豆油が調製できたら、褐色瓶に移し、窒素ガスを充填後密栓して飼料の調製時まで -80°C で保管した。POV の測定は日本油化学協会の公定法⁵⁾に従って行った。

2. 動物実験法

Exp. 1 : 過酸化油脂投与が肝臓と血漿の脂質過酸化度に及ぼす影響の検討

飼料として、市販の粉末 MF 飼料 (脂質含量 5%; 5MF、オリエンタル酵母工業(株)) に過酸化大豆油 (POV 102) を添加し、重量比で飼料中脂質含量が 5、15、25 および 35% のものを調製した。これら飼料を 6 週齢の Wistar/ST 系雄ラット (日本エスエルシー(株)より購入) に 4 週間自由摂取により投与した。飼育室の温度は 23±1°C、明暗 12 時間サイクルは明期 6:00~18:00 とした。最終日の 09:30 にエーテル麻酔下でヘパリン処理したテルモシリンジで腹部大動脈より採血し、肝臓を摘出した。血液は 2000×g、4°C で 15 分間遠心分離して血漿を得た。肝臓と血漿は、チオバルビツール酸陽性物質 (TBARS) の測定に供した。

Exp. 2 : 脂質レベルの異なる MF 飼料で飼育したラットにおける飲用アルカリ性電解水の効果

1) 試験水、飼料および飼育法

試験水は、アルカリイオン整水器 National TK 7705 を用いて調製した。対照水として、浄水モードに設定し、ろ過などの浄化装置は通すが電気分解はしていない水道水を浄水 (Tap water: TW) として用いた。試験水としては、pH 9.5 を若干超える程度となるように整水器を設定して採水した陰極水 (AEW) を用いた。採水直後の水の

pH、酸化還元電位 (ORP : mV)、溶存水素濃度 (DH : ppm) は、それぞれ(株)堀場製作所製 pH メータ F-52、東亜ディーケーケー(株)製 RM-20P および同社製 DH-35A を使用した。TW と AEW の物性は Table 1 に示した。TW は、飲み口をボールポイント給水先管 (夏目製作所(株)製 KN-672 TD-100 φ8×L 65 mm) に付け替えたポリカーボネート容器 (夏目製作所(株)製 給水瓶 KN-670 No.6B) に入れた。AEW は容器中の溶存水素を外へ通さない透明バリアフィルム使用のボトルドパウチ容器 (凸版印刷(株)製、飲み口はムサシ(株)製 SE 給水ノズル) に入れ、空気が容器内に残らないように注意し、ムサシ(株)製 AN パックホルダーに差込み、立てた状態でラットケージに設置した。

Table 1 Properties of experimental waters

Water	pH	ORP (mV)	DH (ppm)
TW	7.07±0.02	+105±1	0.002±0.000
AEW	9.60±0.01	-228±4	0.367±0.005

TW: Tap water passed through potable alkaline electrolyzed water-producing apparatus without electrolysis.

AEW: Potable alkaline electrolyzed water obtained by the electrolysis of tap water with the above apparatus.

ORP: Oxidation-reduction potential, DH: Dissolved hydrogen.

Values(n=27) are the mean ±S.E.

飼料は、粉末 MF 飼料 (脂質含量 5%; 5MF) とそれに過酸化大豆油 (POV 98) を添加し、重量比で飼料中脂質含量 25%とした 25MF 飼料 (Exp.1 参照) を用いた。試験群は、飼料と試験水の組み合わせにより、TW-5MF 群、AEW-5MF 群、TW-25MF 群、AEW-25MF 群の 4 群とした。4 週齢の Wistar/ST 系雄ラット (日本エスエルシー(株)) は、予備飼育後これらの飼料条件で 8 週間自由摂取により本飼育した。飼育室の環境は Exp.1 と同じである。飼料摂取量と飲水量は毎日測定し、体重は週に 1 度測定した。飲料水の交換は、毎日 17:00~18:00 に行った。8 週間の飼育後、最終日の 09:30 にエーテル麻酔下で Exp.1 と同様に採血し、肝臓、副精巣周囲脂肪組織 (epididymal fat pad)、腎周囲脂肪組織 (perirenal fatty pad) を摘出して重量測定をした。血液は 2000×g、4°C で 15 分間遠心分離し血漿と赤血球を得た。血漿は、TBARS 測定およびアディポネクチン測定に供した。赤血球は、スーパーオキシドジスムターゼ (SOD) 活性と総グルタチオン (GSH) 量の測定に供した。肝臓は、TBARS 測定、SOD 活性測定、グルタチオンペルオキシダーゼ (GSH-Px) 活性測定および総 GSH 測定に供した。

2) 各種測定法

血漿 TBARS は、八木の方法⁶⁾に従って、蛍光分光法(励起波長 515 nm、蛍光波長 553 nm)により測定した。検量線は、1,1,3,3-テトラエトキシプロパン (TEP) を用いて作成し、生成するマロンジアルデヒド相当量として求めた。肝臓 TBARS は、Ohkawa らの方法⁷⁾に従って比色法により測定した。検量線は、血漿 TBARS 測定と同様 TEP を用い、マロンジアルデヒド相当量として求めた。血漿アディポネクチンは、大塚製薬(株)のマウス/ラットアディポネクチン ELISA キットを用いて測定した。赤血球および肝臓の SOD 活性は、キサンチン-キサンチンオキシダーゼを利用し産生されたスーパーオキシドがヒドロキシルアミンと反応して産生される亜硝酸の定量を利用した Oyanagi の亜硝酸法⁸⁾により測定した。赤血球および肝臓中の総 GSH 量は、試料液中の酸化型 GSH をグルタチオンレダクターゼにより還元型 GSH に変換し酸化型と還元型の両 GSH を総 GSH として求める Shaik と Mehvar の方法⁹⁾を用いた。肝臓 GSH-Px 活性は、*t*-ブチルヒドロペルオキシド (メルク社) を基質として NADPH の消費を 340 nm での吸光度の減少により測定した¹⁰⁾。赤血球中ヘモグロビンは、和光純薬工業(株)のヘモグロビン B-テストワコー (SLS-ヘモグロビン法) を用いて測定した。試薬は、特に断りのない限りナカライテスク(株)から購入した。

本動物実験は、岐阜大学動物実験委員会の承認を受け、岐阜大学動物実験指針および「実験動物の飼養及び保管等に関する基準」(昭和 55 年 3 月総理府告示 6 号) に準じて実施した。

統計解析法

試験水の違いと飼料中の油脂含量の違いによる影響を評価するため、二元配置の分散分析を行った (Factor A は試験水の違い、Factor B は飼料中の油脂含量の違いとした)。また、群間の比較は、一元配置の分散分析後、Scheffe

法を用いた。何れの場合も、有意性は危険率 5% ($P<0.05$) にて判定した。群間の有意差は、同じアルファベット記号を持たない群間に有意差があるとして表示した。統計処理ソフトは、(株)社会情報サービス社のエクセル統計 2006 for Windows を用いた。

結果および考察

1. 過酸化油脂投与が肝臓と血漿の脂質過酸化度に及ぼす影響に対する AEW の飲用効果

本実験では、油脂が 5%入っている飼料 (5MF) に油脂を追加し摂食させたときの影響に対する AEW の飲用効果を調べることが目的であるが通常の油脂をそのまま添加することは避け、過酸化油脂を用いた。その理由は、通常の油脂をそのまま飼料に添加した場合、脂肪組織重量は増加し、肥満の様相は認められるが、肝臓や脂肪組織中の TBARS の上昇は見られないからである¹¹⁾。その原因は、通常油脂に含まれるビタミン E (トコフェロール) などの抗酸化物質の摂取量が増加することにあると考えられる。したがって、TBARS に対する影響を調べるためには、通常の油脂をそのまま用いることは避ける必要がある。油脂の酸化は、油脂に含まれるトコフェロールの効力が失われると急速に進むことから、本実験においては POV 100 を目安とした過酸化油脂を添加して使用した。ラットの成長および最終体重には差はなく、特に外見的影响は見られなかった(データ省略)。血漿 TBARS は、脂質含量が 25 および 35%の飼料群において若干高値となった (Fig. 1)。また、肝臓 TBARS は、飼料中脂質含量が高くなるに従って高くなり、脂質含量 25 および 35%の飼料群においては有意な上昇を示した (Fig. 2)。したがって、過酸化油脂を添加した高脂質飼料を摂取すると、生体内の脂質過酸化度は高くなることが示された。すなわち、脂質含量を高めた飼料は生体内での脂質の過酸化度を高めることが明らかになった。

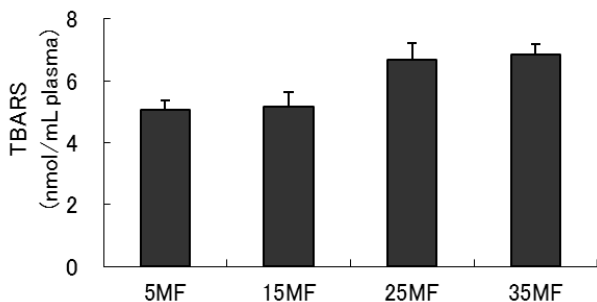


Fig. 1 Plasma TBARS in rats fed diets differing in lipids content (Exp. 1)

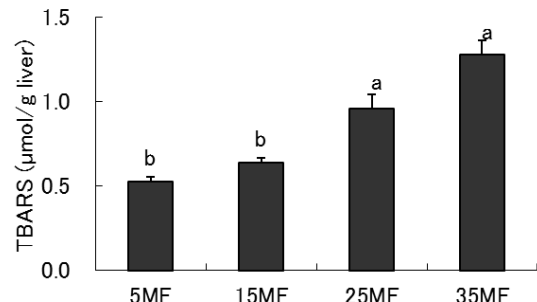


Fig. 2 Liver TBARS in rats fed diets differing in lipids content (Exp. 1)

2. ラット内臓物質に対する高脂質飼料摂取の影響と AEW 飲用による低減効果

本実験では、5MF と 25MF の飼料 2 種を用いて AEW の飲用効果について検討を行った。その結果、最終体重と体重増加量は、高脂質飼料の 25MF 群では若干高い様相は見られたが、群間に有意な差はなかった (Table 2)。飼料摂取量と飲水量は、5MF 群よりも 25MF 群の方が低かったが、試験水の違いによる有意な差は見られなかった。25MF 飼料群では、高脂質のため飼料のエネルギー密度が高くなっているため同じカロリー摂取では摂取量が低下し、また、生体内で産生される代謝水による水の供給が増えたため飲水量が低下したものと考えられる。

Table 2 Final body weight, weight gain, food intake and water intake of the experimental rats (Exp. 2)

Group	Final body Weight (g)	Weight gain (g/57 days)	Food intake (g/57 days)	Water intake (g/57 days)
TW-5MF	417±8	304±7	1219±32 [“]	1725±73 [“]
AEW-5MF	401±10	288±9	1139±22 [”]	1574±84 [”]
TW-25MF	444±21	331±19	1033±40 [˘]	1463±71 [”]
AEW-25MF	419±11	307±11	1012±18 [˘]	1298±63 [˘]
<i>P</i> value				
Factor A	0.184	0.158	0.131	0.0634
Factor B	0.138	0.110	8.49×10 [˘]	3.10×10 [˘]

Factor A: test water, Factor B: lipid level in diets

Table 3 Weight of epididymal and abdominal fatty pads and plasma adiponectin concentration of the experimental rats (Exp. 2)

Group	Weight of epididymal fatty pads (g)	Weight of perirenal fatty pads (g)	Adiponectin (µg/mL plasma)
TW-5MF	8.0±0.5	11.0±0.9 [”]	17.0±0.4 [˘]
AEW-5MF	6.9±0.3	9.0±0.4 [˘]	21.9±1.2 [”]
TW-25MF	9.7±1.4	16.0±2.0 [”]	23.9±0.9 [”]
AEW-25MF	10.1±1.4	11.4±1.8 [”]	25.4±0.1 [”]
<i>P</i> value			
Factor A	0.766	4.70×10 [˘]	8.69×10 [˘]
Factor B	4.33×10 [˘]	2.90×10 [˘]	4.12×10 [˘]

Factor A: test water, Factor B: lipid level in diets

一方、副精巣周囲脂肪および腎臓周囲脂肪の重量は、高脂質飼料による有意な増加が見られた。一般的に高脂質食は、生体内脂肪組織重量を高める¹¹⁻¹³⁾ので、過酸化油脂を負荷した今回の結果も従来の高脂質飼料と同様であった。しかし、腎臓周囲脂肪重量は、AEW 摂取による有意な低下効果が認められた (Table 3)。小関ら¹⁴⁾は、いわし油を 10%含む飼料で 1 ヶ月飼育した場合、AEW は血中トリグリセリドを低下させたと報告しているが、脂肪組織重量については不明である。一方、血漿のアディポネクチン濃度 (Table 2) は、高油脂飼料 (25MF) による増加効果が見られ、AEW 飲用による増加効果も認められた。アディポネクチンは、脂肪細胞から分泌されるアディポサイトカインの一つで、動脈硬化予防などの観点からそのレベル維持が必要とされている¹⁵⁾。AEW 飲用がなぜアディポネクチン分泌を高めるのかは不明であるが、有益な効果の一つとして注目したい。

血漿および肝臓の脂質過酸化度は、TBARS として評価した (Fig.3 および 4)。Exp. 1 と同様に、血漿 TBARS 値は高油脂飼料 (25MF) による増加効果が見られ (*P* 値 1.71×10⁴⁾、AEW 飲用による低下効果が見られた (*P* 値 7.40×10⁴⁾。AEW 飲用による TBARS の低減化効果は、特に高油脂飼料条件下の場合に顕著で、AEW-25MF 群での低下は TW-25MF 群に比べて有意であった (Fig.3)。肝臓の TBARS 値も、高油脂条件による著しい増加効果 (*P* 値 1.50×10¹¹⁾ と AEW 飲用による低下効果が見られた (*P* 値 2.37×10⁷⁾。AEW 飲用による TBARS の低減化効果は、特に高油脂飼料条件下の場合に顕著で、AEW-25MF 群では TW-25MF 群に比べて有意な低下が見られた。

高脂肪食を摂取した実験動物において血漿や肝臓等の TBARS を低下させるものとしては、ケルセチン¹⁶⁾、β-カロテン¹⁷⁾、カンタキサンチン¹⁷⁾、α-トコフェロ

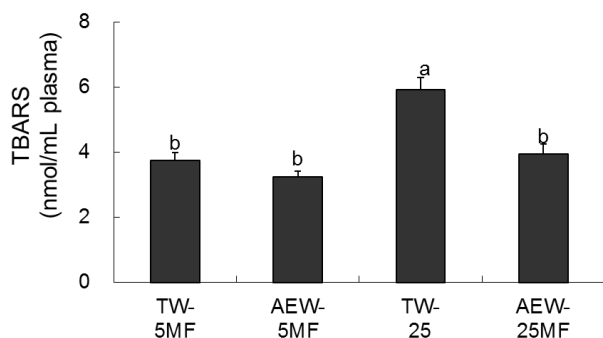


Fig. 3 Plasma TBARS in the experimental rats (Exp. 2)

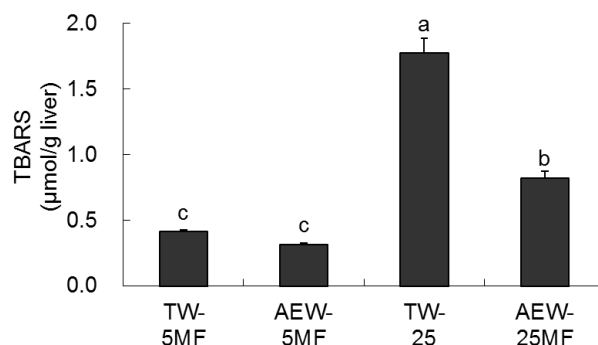


Fig. 4 Liver TBARS in the experimental rats (Exp. 2)

ール¹⁷⁾といった抗酸化物質での報告がある。また、赤カブ¹⁸⁾、ブドウの皮¹⁹⁾、レタス²⁰⁾、ピスタチオ²¹⁾といった食品添加飼料においても報告されている。何れもそれらに有効成分として含まれている抗酸化物質によると報告されている。AEWの効果については、溶存水素が関係していると考えられているが、まだ明確な解明はなされていない。

3. ラットの抗酸化系酵素や抗酸化物質のレベルに対する高脂質飼料摂取と飲用アルカリ性電解水飲用の影響
次に、生体内における抗酸化系酵素や抗酸化物質が高脂質飼料摂取と AEW 飲用によりどのような影響を受けたかについて調べた (Table 4)。赤血球 SOD 活性には有意な変化はなかった。肝臓 SOD 活性は、試験群間に有意な差は見られなかったが AEW 飲用による増加効果が認められた。SOD 活性が高脂肪食や抗酸化成分摂取により変化したという報告は少ないが、β-カロテンを与えた場合に有意に増加したという例がある¹⁷⁾。一方、肝臓

GSH-Px 活性は、試験群間に有意な差は見られなかったものの AEW 飲用による低下効果が認められた。このように抗酸化系酵素に対して AEW の影響が見られたが、GSH-Px 活性については、高脂肪食で TBARS が高くなってもブドウ皮添加飼料では GSH-Px 活性に変化はなかったとする Lee らの報告¹⁹⁾、β-カロテン、カンタキサンチン、α-トコフェロール添加飼料では有意な変化をしないという報告¹⁷⁾、赤カブ¹⁸⁾とレタス²⁰⁾では GSH-Px が増加するという報告があつて一様ではない。一方、抗酸化物質である総 GSH は、赤血球中では高油脂飼料による低下効果が見られたが、AEW の効果は認められなかった。しかし、肝臓の総 GSH では、高油脂による低下効果と AEW による増加効果が認められた。

還元型 GSH は、生体内の重要な抗酸化物質であり、GSH-Px により過酸化脂質を消去する反応において酸化される。つまり、還元型 GSH は一般に生体内での酸化反応が進むと低下すると考えられる。先に示した報告例において総 GSH 量は、赤カブ¹⁸⁾やレタス²⁰⁾の摂取により増

Table 4 Activities of anti-oxidative enzymes in erythrocytes and liver and content of total glutathione in erythrocytes and liver and (Exp. 2)

Group	Liver GSH-Px (Units/g Liver)	Erythrocytes SOD (NU/g Hb)	Liver SOD (NU/g liver)	Erythrocytes GSH (nmol/mg Hb)	Liver GSH (μmol/g Liver)
TW-5MF	3699±172 ^a	275±20	48.4±3.2	7.78±0.43	5.91±0.13 ^{uv}
AEW-5MF	3370±354 ^{uv}	328±11	61.2±2.4	8.26±0.20	6.65±0.25 ^a
TW-25MF	2885±196 ^{uv}	313±10	52.7±5.5	6.79±0.78	5.13±0.21 ^v
AEW-25MF	2522±113 ^v	288±18	57.0±4.9	6.51±0.15	5.64±0.20 ^v
<i>P</i> value					
Factor A	3.25×10 ⁻³	0.426	7.72×10 ⁻²	0.846	1.00×10 ⁻²
Factor B	0.180	0.952	0.986	1.35×10 ⁻²	6.01×10 ⁻²

Factor A: test water, Factor B: lipid level in diets

加することが認められている。本実験において AEW 飲用により総 GSH が高値を示したことは、生体内の酸化状態を軽減する状況が AEW 飲用により得られた可能性を示すのではないかと考えられる。Lee ら¹⁹⁾は、ブドウの皮を摂取した場合には、GSH/GSSG 比が高脂肪食により低下することを報告している。AEW 飲用により GSH/GSSG 比がどのように変化するかについては今後の課題である。

本実験における AEW の効果においては、何が効いているのか現時点では不明である。AEW の飲用効果は、調製直後の新鮮なものを毎日与えた方が、一日おきと与えた場合よりもはっきりと出ること（未発表データ）、AEW の特性である溶存水素の保持がこれまでの実験結果（未発表データ）からも重要と思われることを考えると、溶存水素との関連が予測される。アルカリイオン水の特徴としての溶存水素が示されているが²²⁾、水素は脂質への溶解性が高いことも関係している可能性がある²³⁾。以前に、水素が活性酸素の補足をするという考えも提出されたが²⁴⁾、最近では水素そのものというよりは白金ナノコロイドの存在が重要であると報告されている²⁵⁾。溶存水素自体には強い抗酸化性はないのでこうした点の解明が望まれる。しかし、医療面においては、虚血性の酸化障害が直接の水素ガス吸引によって軽減されることが報告されており²⁶⁾、水素が抗酸化効果を担っていることが示されている。また、酸化ストレスにより惹起された学習認知力の低下したラットに水素水を投与することにより改善することも報告されている²⁷⁾。このように、分子状水素は、酸化障害に対して有効であることが示されつつあり、AEW の効果と何らかの接点があるのかもしれない。

謝辞

本研究に関する一連の研究に対して助成頂きました機能水研究振興財団に御礼申し上げます。また、ボトルドパウチ容器をご恵贈頂きました凸版印刷株式会社に感謝致します。

文献

- 1) 糸川嘉則：飲用アルカリ性電解水（アルカリイオン水）研究の流れ。 *機能水研究*, **2**(2): 59-64, 2004.
- 2) 早川享志：アルカリイオン水の機能と応用。 *FOOD Style 21*, **3**(2): 49-55, 1999.
- 3) 吉川敏一、内藤祐二、近藤元治：アルカリイオン水の胃機能に及ぼす影響と胃粘膜障害抑制作用。 *FRAGRANCE JOURNAL*, **3**: 14-17, 1999.
- 4) 田代博一、北洞哲治、藤山佳秀 ほか：慢性下痢に対するアルカリイオン水の有効性の臨床的検討—double blind placebo control study による—。 *消化と吸収*, **23**: 52-56, 2000.
- 5) 太田静行：13-2 過酸化物質の測定法。日本食品工業学会食品分析法編集委員会編, *食品分析法*, pp.552-557, 光琳, 1982.
- 6) Yagi K: Simple assay for the level of total lipid peroxides in serum or plasma. *Methods Mol. Biol.*, **108**: 101-106, 1998.
- 7) Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, **95**(2): 351-358, 1979.
- 8) Oyanagi Y: Reevaluation of assay methods and establishment of kit for superoxide dismutase activity. *Anal. Biochem.*, **142**: 290-296, 1984.
- 9) Shaik IH, Mehvar R: Rapid determination of reduced and oxidized glutathione levels using a new thiol-masking reagent and the enzymatic recycling method: application to the rat liver and bile samples. *Anal. Biochem.*, **385**(1): 105-113, 2006.
- 10) Laurence RA, Burk RF: Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **71**(4): 952-958, 1976.
- 11) Sohet FM, Neyrinck AM, Dewulf EM *et al.*: Lipid peroxidation is not a prerequisite for the development of obesity and diabetes in high-fat-fed mice. *Br. J. Nutr.*, **102**(3): 462-469, 2009.
- 12) da Silva AA, Kuo JJ, Tallam LS *et al.*: Role of endothelin-1 in blood pressure regulation in a rat model of visceral obesity and hypertension. *Hypertension*, **43**(2): 383-387, 2004.
- 13) Smith AD, Brands MW, Wang MH *et al.*: Obesity-induced hypertension develops in young rats independently of the renin-angiotensin-aldosterone system. *Exp. Biol. Med.* (Maywood), **231**(3): 282-287, 2006.
- 14) Koseki M, Nakagawa A, Seki H *et al.*: Drinking alkaline electrolyzed water suppresses the elevation of serum triglyceride level in rats. *J. Functional Water*, **3**(1): 1-6, 2007.
- 15) Skrabal CA, Czaja J, Honz K *et al.*: Adiponectin—its potential to predict and prevent coronary artery disease. *Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **59**(4): 201-206, 2011.
- 16) Yamamoto Y, Oue E: Antihypertensive effect of quercetin in rats fed with a high-fat high-sucrose diet. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **70**(4): 933-939, 2006.
- 17) Shih CK, Chang JH, Yang SH *et al.*: beta-Carotene and

- canthaxanthin alter the pro-oxidation and antioxidation balance in rats fed a high-cholesterol and high-fat diet. *Br. J. Nutr.*, **99**(1): 59-66, 2008.
- 18) Lee JH, Son CW, Kim MY *et al.*: Red beet (*Beta vulgaris* L.) leaf supplementation improves antioxidant status in C57BL/6J mice fed high fat high cholesterol diet. *Nutr. Res. Pract.*, **3**(2): 114-121, 2009.
- 19) Lee SJ, Choi SK, Seo JS: Grape skin improves antioxidant capacity in rats fed a high fat diet. *Nutr Res Pract.*, **3**(4): 279-285, 2009.
- 20) Lee JH, Felipe P, Yang YH *et al.*: Effects of dietary supplementation with red-pigmented leafy lettuce (*Lactuca sativa*) on lipid profiles and antioxidant status in C57BL/6J mice fed a high-fat high-cholesterol diet. *Br. J. Nutr.*, **101**(8): 1246-1254, 2009.
- 21) Alturfan AA, Emekli-Alturfan E, Uslu E: Consumption of pistachio nuts beneficially affected blood lipids and total antioxidant activity in rats fed a high-cholesterol diet. *Folia Biol. (Praha)*, **55**(4): 132-136, 2009.
- 22) 菊地憲次: アルカリイオン水 (飲用アルカリ性電解水) の基礎. *機能水研究*, **2**(2): 65-69, 2004.
- 23) 菊池憲次、前田美保、岡谷卓司 ほか: 脂質—水系における水素ガスの分配. *機能水研究*, **1**(1): 26, 2002.
- 24) Shirahata S, Kabayama S, Nakano M *et al.*: Electrolyzed-reduced water scavenges active oxygen species and protects DNA from oxidative damage. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **234**(1): 269-274, 1997.
- 25) Hamasaki T, Kashiwagi T, Imada T *et al.*: Kinetic analysis of superoxide anion radical-scavenging and hydroxyl radical-scavenging activities of platinum nanoparticles. *Langmuir.*, **24**(14): 7354-7364, 2008.
- 26) Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K *et al.*: Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals. *Nat. Med.*, **13**(6): 688-694, 2007.
- 27) Nagata K, Nakashima-Kamimura N, Mikami T *et al.*: Consumption of molecular hydrogen prevents the stress-induced impairments in hippocampus-dependent learning tasks during chronic physical restraint in mice. *Neuropsychopharmacology*, **34**(2): 501-508, 2009.

Reduction of lipid peroxide in rats by long-term ingestion of potable alkaline electrolyzed water

Takashi HAYAKAWA^{1,2,3}, Tadashi SAKO¹, Zhang GUIHONG², Takuma MATSUOKA², Takao SHIMAKURA², Yuki TOMIDA³, Kaori TERAZAWA⁴, Kenta HIRAMATSU³, Tomoyuki NAKAGAWA^{1,2,3} and Haruhito TSUGE^{2,3}

¹ Graduate School of Applied Biological Sciences, Gifu University, ² Graduate School of Agriculture, Gifu University,

³ Faculty of Agriculture, Gifu University, ⁴ Faculty of Applied Biological Sciences, Gifu University

Takashi Hayakawa: Faculty of Applied Biological Sciences, Gifu University; 1-1 Yanagi-do, Gifu 501-1193, Japan.

Tel: 058-293-2929 Fax: 058-293-2840 E-mail: hayakawa@gifu-u.ac.jp

Abstract

Effect of long-term ingestion of potable alkaline electrolyzed water (AEW) on lipid peroxidation in rats were studied. Firstly, we examined that the addition of oxidized soybean oil to commercial MF diet to meet 25% lipids in diet (25MF) was effective in increasing thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in plasma and liver of rats (Exp. 1). Then, MF or 25MF diet with tap water or AEW were fed to rats for 2 months (Exp. 2). Ingestion of AEW effectively reduced plasma and liver TBARS, especially in the group fed 25MF diet. On the other hand, weight of epididymal fatty pad decreased by AEW and liver total glutathione content and plasma adiponectin concentration were increased by AEW. Thus, the effect of AEW ingestion was apparent in high lipid dietary conditions and contribution to the fortification of anti-oxidative environment in body was presumed.