

Original article

Effect of ceramic-treated water on food functionality of strawberries.

Wakako Takabe¹⁾, Takehiro Nagata¹⁾, Karin Nakamura¹⁾, Mika Asano²⁾,
Masayuki Yagi³⁾, Yoshikazu Yonei³⁾, Yasushi Kondo⁴⁾, and Shinichi Sugiura⁵⁾

- 1) Department of Materials and Life Science, Faculty of Science and Technology,
Shizuoka Institute of Science and Technology, Shizuoka, Japan
- 2) MS Dream Co., Ltd., Aichi, Japan
- 3) Anti-Aging Medical Research Center and Glycation Stress Research Center,
Graduate School of Life and Medical Sciences, Doshisha University, Kyoto, Japan
- 4) Ichigono Sato, Aichi Japan
- 5) Center for Clinical Pharmacy Education and Research, Faculty of Pharmacy,
Doshisha Women's College of Liberal Arts, Kyoto, Japan

Glycative Stress Research 2022; 9 (2): 63-72
(c) Society for Glycative Stress Research

(原著論文：日本語翻訳版)

イチゴの食品機能性に陶片処理水が与える影響

高部稚子¹⁾、永田剛大¹⁾、中村香凛¹⁾、浅野美香²⁾、八木雅之³⁾、米井嘉一³⁾
近藤 泰⁴⁾、杉浦伸一⁵⁾

- 1) 静岡理科大学理工学部
- 2) MSドリーム株式会社
- 3) 同志社大学大学院生命医科学研究科アンチエイジングリサーチセンター／糖化ストレス研究センター
- 4) いちごの郷
- 5) 同志社女子大学薬学部医療薬学科

抄録

【目的】糖化反応は還元糖と蛋白質の非酵素的反応であり、advanced glycation end products (AGEs)を産生し複数の疾患に関与する。我々は、イチゴがAGEsの生成を抑制する植物の一つであることを報告している。特殊陶器片で処理した水（陶片処理水）は農作物の生育を促進させることが報告されている。本研究では、陶片処理水を用いた栽培がイチゴの食品機能性、特に抗糖化作用と抗酸化作用に及ぼす影響について検討した。

連絡先：高部稚子 准教授
静岡理科大学理工学部
〒437-8555 静岡県袋井市豊沢 2200-2
TEL & FAX: 0538-45-0164 e-mail: takabe.wakako@sist.ac.jp
共著者：永田剛大 1714024.nt@sist.ac.jp; 中村香凛 1814038.nk@sist.ac.jp;
浅野美香 info@msdream.co.jp; 八木雅之 myagi@mail.doshisha.ac.jp;
米井嘉一 yyonei@mail.doshisha.ac.jp; 近藤 泰 ichigonosato1027@facebook.com;
杉浦伸一 ssugiura@dwc.doshisha.ac.jp

Glycative Stress Research 2022; 9 (2): 63-72
本論文を引用する際はこちらを引用してください。
(c) Society for Glycative Stress Research

【方法】 14 品種のイチゴを通常水または陶片処理水で栽培し、収穫したイチゴをスライスし、乾燥、粉末化した。熱水抽出物をヒト血清アルブミン (HSA)- グルコース糖化モデルに添加し、蛍光 AGEs 産生量を測定することで糖化抑制効果を評価した。抗酸化作用は DPPH 法で測定した。

【結果】 すべてのイチゴ試料に抗糖化作用と抗酸化作用が認められた。対応のある t 検定においては両者とも栽培水の違いによる有意な差は見られなかった。しかし、品種ごとに比較すると、AGEs 産生抑制効果は 1 品種、抗酸化活性は 4 品種が陶片処理水栽培により有意に上昇することが示された。抗糖化作用と抗酸化作用の相関を調べたが、相関は認められなかった。

【結論】 本研究では、14 品種のイチゴについて栽培水の影響を検討した。陶片処理水はイチゴの特徴を変化させたが、品種に依存した。このことは、陶片処理水の効果が特定の品種に限定される可能性を示している。また、抗糖化作用と抗酸化作用に相関がないことから、それぞれの作用に寄与している物質が異なることが示唆された。

KEY WORDS: 特殊陶器片、抗酸化作用、抗糖化作用、イチゴ (*Fragaria × ananassa*)

緒言

Glucose や fructose などの還元糖は、生命活動において必要不可欠な栄養素である。しかしながら生体内で還元糖が過剰に存在すると、蛋白質と非酵素的に結合する糖化反応を介して蛋白質の変性・劣化が生じ終末糖化産物 (advanced glycation endproducts: AGEs) が産生される¹⁾。AGEs は加齢に伴い生体内に蓄積し、癌²⁾、糖尿病³⁾、骨粗鬆症⁴⁾、動脈硬化症⁵⁾、アルツハイマー病^{6,7)} などの生活習慣病の発症に関与する。還元糖に起因する生体ストレスと生活習慣病になるまでの過程を総合的に捉えた概念のことを糖化ストレスと呼ぶ。糖化ストレスを抑制する方法としては、高血糖状態を防ぐ、AGEs の産生を抑制する、AGEs の吸収を抑制する、AGEs の分解・排泄を促進させる、AGEs による細胞・組織への障害を抑制することなどが挙げられる。我々は先行研究により糖化反応を抑制する効果 (抗糖化作用) を有する植物の 1 つとしてイチゴを見出している⁸⁾。イチゴ (*Fragaria × ananassa*) はオランダ原産の偽果を食用とする植物であり、含まれるビタミン C やポリフェノール類などは、抗酸化作用・抗糖化作用だけでなく抗炎症作用を示すことも報告されている⁸⁻¹¹⁾。イチゴは交配により数多くの品種が生み出されているが、日本は最も品種数の多い国の一つであり販売されているものだけでも 300 種類以上存在する¹²⁾。果物の摂取は 2 型糖尿病の発症リスクを低下させることが報告されている¹³⁾。一方で含まれる果糖について肥満や高脂血症・糖尿病に関わると捉えられることが多い。

特殊陶器片は 2000 年に開発された特殊釉を用いた多孔質の陶器であり、臭気分解作用、殺菌作用、生物学的酸素

要求量 (biochemical oxygen demand; BOD) の減少を伴う水質改善効果を示すことが知られている^{14,15)}。また特殊陶器片で処理した水 (陶片処理水) を農作物に使用すると、米栽培では収穫量の増加、桃栽培においては重量の増加、果肉の引き締まり及び味の改善効果を示したことが報告されている¹⁵⁾。しかしながら、イチゴに対する陶片処理水の効果についての報告はない。

本研究では 14 品種のイチゴについて、陶片処理水を用いた栽培により食品機能の充進が認められるか、具体的には抗糖化作用及び抗酸化作用に着目し検証した。

実験方法

材料

イチゴは同志社女子大学薬学部 (京都府京田辺市) より提供された 14 品種を用いた (**Table 1**)。イチゴは高さ 1 m 程度のベンチ上に栽培ベッドを配置して行う高設栽培とした。並列したベンチに各品種のいちごの苗を同配列になるように配置し、通常水または特殊陶器片を充填した金属管 (直径 10 cm 全長 100 cm) 内に通常水を 1 回通過させて作成した陶片処理水を灌水した。灌水は、各々 1 日 4 回一株あたり約 50 mL ずつ点滴灌水した (**Fig. 1**)。また、栽培条件が同一になるように灌水管理を行った。ヒト血清アルブミンは Sigma-Aldrich (St. Louis, MO) から購入した。1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl Free Radical (DPPH) 及び 2-(N-morpholino) ethanesulfonic acid (MES) は東京化成工業株式会社 (東京)、それ以外の試薬については全て富士フィルム和光純薬株式会社 (大阪) から購入した。

Table 1. The cross-fertilization of strawberries

variety	the cross-fertilization of strawberry varieties
Ai-berry	undisclosed
Akihime	Nyohou × Kuno-wase
Asuka-ruby	Nyohou × Asuka-wave
Amaka	Amaou × Kiyoka
Kaorino	breeding lines (0028401) × breeding lines (0023001) (breeding among Nyohou × Ai-berry × Toyonoka × Houkou-wase × Akihime × Akasyanomitshuko × Tochiotome × Sanchigo)
Kiyoka	Nyohou × Ai-berry
Koiminori	breeding lines (03042-08) × Hinoshizuku
Nyohou	Harunoka × Dana × Reikou
Benihoppe	Akihime × Satinoka
Hoshinokirameki	undisclosed
Toukun	breeding lines (undisclosed) × Kurume-IHlgou
Yayoihime	(Tonehoppe × Tochiotome) × Tonehoppe
Yotsuboshi	Mie-bohonlgou × A8S4-147
Red-pearl	Ai-berry × Toyonoka

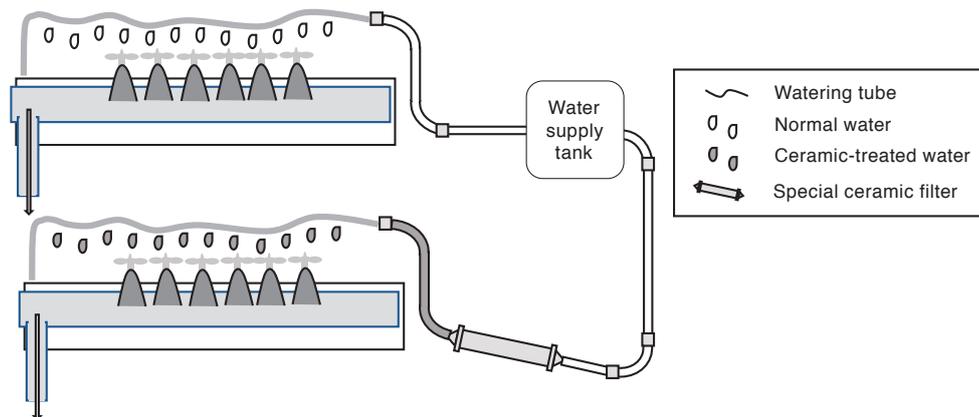


Fig. 1. Special ceramic chip filtration system.

Water was supplied from a common irrigation tank, one connected to normal water and the other to a special ceramic chip filtration system. Each plant was irrigated four times a day, about 50 mL each time.

サンプルの作製

収穫したイチゴを薄くスライスし65°Cで120時間風乾し、粉末化した。乾燥粉末2gを超純水40mLと混合し80°C、75分間加熱を行った。この時15分ごとにチューブを取り出し振とうさせた。室温で静置後チューブを遠心分離し(3,350 × g, 10分)、上清をろ過し試料である熱水抽出液を得た。5mLの抽出液を蒸発させ固形分濃度を算出し、超純水を用いて使用する濃度に希釈した。

糖化反応溶液の作製

糖化反応抑制作用の検証は既報¹⁶⁾を同様に参考にヒト血清アルブミン (human serum albumin: HSA) とグルコース

を反応させる糖化反応モデルを用いた。反応液は8 mg/mL HSAと0.2 mol/Lグルコースを含む0.05 mol/Lリン酸緩衝液 (pH 7.4) ; (溶液A)、Aのグルコース溶液の代わりに精製水を添加した溶液 ; (溶液B)、Aに30 mg/mLのイチゴ熱水抽出液試料溶液を1/10量添加した(終濃度3 mg/mL)溶液 ; (溶液C)、Cのグルコース溶液の代わりに精製水を添加した溶液 ; (溶液D)をそれぞれ作製し60°Cで40時間インキュベートした。

AGEsの測定と糖化反応抑制作用の算出

既報¹⁷⁾を参考に反応後の溶液を200 μLを黒色のマイクロプレートに入れ、AGEs由来蛍光(励起波長370 nm/蛍

光波長440 nm)をInfinite M1000 (TECANジャパン株式会社、神奈川県)を用いて測定した。イチゴ熱水抽出液の蛍光性AGEs産生抑制率は、次式によって算出した。

蛍光性AGEs産生抑制率(%) = $\{1 - (C - D) / (A - B)\} \times 100$

イチゴ熱水抽出液の抗酸化作用

イチゴ熱水抽出液の抗酸化能は、既報¹⁸⁾の測定法を改変したDPPHラジカル消去活性評価法を一部改変し算出した。具体的には終濃度0.5 mg/mLのイチゴ熱水抽出液と200 mmol/L DPPHを50 mmol/Lの2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid (MES) 緩衝液 (pH 6.0) 内で20分間、室温で反応させ、520 nmの吸光度を測定した。DPPHラジカル消去活性は、ビタミンEの水溶性アナログであるTroloxを標準品として使用し、Trolox当量として算出した。

統計解析

測定値は平均値 ± 標準偏差で示した。測定値の比較にはダネットの多重比較検定 (Dunnett's test) またはt検定を用いた。陶片処理水の影響に関しては、品種ごとに対応のあるt検定を行った。統計解析結果は危険率5%未満を有意とした。

結果

イチゴ熱水抽出液の固形分濃度の算出

各イチゴ品種の熱水抽出液の固形分濃度をTable 2に示した。栽培水の違いによる固形分濃度及び品種別の固形分

濃度の差は認められなかった (陶片処理水栽培の平均値: 36.3 mg/mL、通常水栽培の平均値: 36.4 mg/mL)。

陶片処理水による栽培がイチゴの蛍光性AGEs産生抑制作用に与える影響

イチゴ熱水抽出液の終濃度3 mg/mLにおける蛍光性AGEs産生抑制率の結果をTable 3に示す。14品種のイチゴ全てにおいて栽培水の違いによらず蛍光性AGEs産生を有意に抑制した。最も蛍光性AGEs産生抑制率が高かったのは陶片処理水栽培の恋みのり (92.3 ± 1.77%)、最も低かったのは通常水栽培の紅ほっぺ (69.7 ± 3.80%) であった。品種別にt検定を行ったところ、恋みのりのみ陶片処理水栽培により蛍光性AGEs産生抑制作用の有意な亢進が認められた (92.3 ± 1.77% [陶片処理水栽培]、87.8 ± 1.37% [通常水栽培]、p = 0.024)。栽培水別に対応のあるt検定を行ったところ、栽培水の違いによる有意差は認められなかった (78.9 ± 6.47% [陶片処理水栽培]、79.8 ± 5.16% [通常水栽培]、p = 0.430, Fig. 2)。通常水で栽培した14品種を比較すると、最も高い蛍光性AGEs産生作用を示した恋みのり (87.8 ± 1.37%) に対し、四つ星、章姫、アイベリー、あまか、女峰、桃薫、やよい姫、紅ほっぺの8品種が有意に低かった (Fig. 3)。これらのことから栽培水がイチゴの蛍光性AGEs産生抑制作用に与える影響は小さく、むしろ品種ごとの差が大きいことが示された。

陶片処理水による栽培がイチゴの抗酸化作用に与える影響

陶片処理水及び通常水を使用し栽培したイチゴの熱水抽出液を用いてDPPHラジカル消去活性を測定した。14品

Table 2. Solid content of hot water extract of samples

variety	solid content [mg/mL]	
	Ceramic-treated water	Normal water
Ai-berry	36.5	35.7
Akihime	38.0	38.2
Asuka-ruby	34.4	35.2
Amaka	35.7	36.1
Kaorino	35.5	37.1
Kiyoka	36.0	36.3
Koiminori	36.1	36.9
Nyohou	36.6	36.8
Benihoppe	38.6	36.8
Hoshinokirameki	38.2	38.9
Toukun	33.5	31.1
Yayoihime	36.0	36.6
Yotsuboshi	37.8	39.2
Red-pearl	35.5	35.0
average	36.3	36.4

Table 3. The ratio of inhibitory effect on fluorescent AGE formation (%)

variety	Ceramic-treated water	Normal water	p value
Ai-berry	76.8 ± 3.26	77.7 ± 4.10	0.782
Akihime	72.4 ± 2.91	79.7 ± 4.28	0.071
Asuka-ruby	84.8 ± 1.69	85.1 ± 1.59	0.845
Amaka	81.8 ± 2.53	77.4 ± 1.56	0.062
Kaorino	78.8 ± 3.09	80.9 ± 2.26	0.396
Kiyoka	86.9 ± 0.80	85.8 ± 0.45	0.118
Koiminori	92.3 ± 1.77	87.8 ± 1.37	0.024
Nyohou	78.5 ± 3.90	76.8 ± 4.97	0.664
Benihoppe	74.3 ± 4.56	69.7 ± 3.80	0.253
Hoshinokirameki	74.4 ± 4.91	80.8 ± 2.84	0.123
Toukun	70.3 ± 6.67	76.1 ± 3.57	0.255
Yayoihime	70.0 ± 5.74	73.1 ± 4.04	0.486
Yotsuboshi	80.8 ± 1.80	80.0 ± 2.70	0.690
Red-pearl	82.4 ± 1.93	85.8 ± 2.86	0.156

The results are expressed as mean ± SD of 3 experiments. AGE, advanced glycation end products; SD, standard deviation

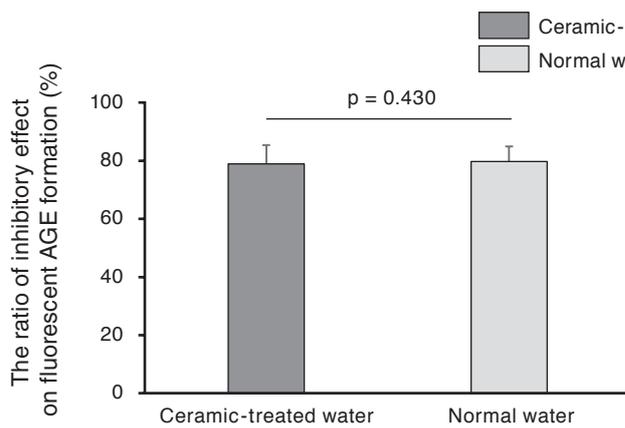


Fig. 2. Effect of ceramic-treated water on inhibitory effect on fluorescent AGE formation of strawberry varieties.

Fourteen variety of strawberry plants were cultivated either ceramic-treated water or normal water. Hot water extracts of each strawberry variety were prepared and used to determine the inhibitory effect of fluorescent AGE formation. Paired t-test was conducted to investigate the effect of cultivation water on anti-glycative effect of strawberries. All data were shown as the mean ± SD (n = 3). AGE, advanced glycation end product; SD, standard deviation.

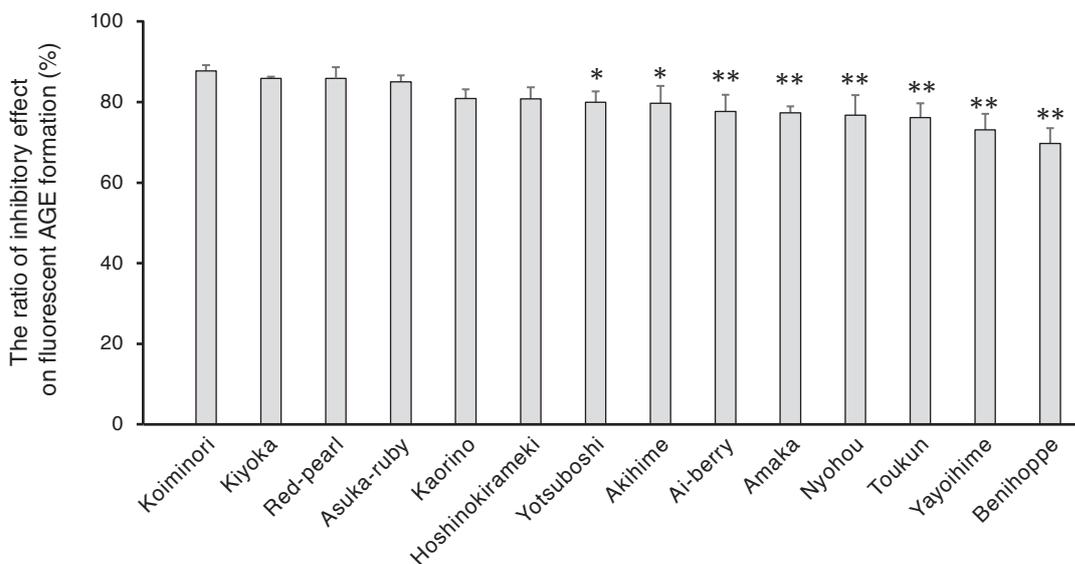


Fig. 3. Differences in inhibitory effect on fluorescent AGE formation between strawberry varieties.

Fourteen variety of strawberry plants were cultivated using normal water. Hot water extracts of each strawberry variety were prepared and used to determine the inhibitory effect of fluorescent AGE formation. All data were shown as the mean ± SD (n = 3). * p < 0.05 and ** p < 0.01 vs. Koiminori. AGE, advanced glycation end product; SD, standard deviation.

種のイチゴ全てにおいて栽培水の違いによらずDPPHラジカル消去活性が認められた (Fig. 4)。最もDPPHラジカル消去活性が高かったのは通常水栽培の桃薫 (117.9 ± 0.81 nmol Trolox 当量/mg 固形分量)、最も低かったのは通常水栽培のあまか (46.5 ± 1.47 nmol Trolox 当量/mg 固形分量) であった。品種別にt検定を行ったところ、あまか、清香、女峰、四つ星の4品種が陶片処理水栽培により有意なDPPHラジカル消去活性の亢進を示した。その一方で、星のきらめき、レッドパールは陶片処理水によりDPPHラジカル消去活性が有意に低くなった。栽培水別に対応のあるt検定を行ったところ、通常水と陶片処理水を用いた栽培に有意差は認められなかった (72.1 ± 16.7 nmol Trolox 当量/mg 固形分量 [陶片処理水栽培]、69.9 ± 20.2 nmol Trolox 当量/mg 固形分量 [通常水栽培]、 $p = 0.540$ 、Fig. 5)。通常水で栽培した14品種を比較すると、最も高いDPPHラジカル消去活性を示した桃薫に対し、他の13品種は有意に低かった (Fig. 6)。これらのことから栽培水がイチゴの抗酸化作用に与える影響は小さく、むしろ品種ごとの差が大きいことが示された。

イチゴの抗糖化作用と 抗酸化作用の相関関係の検証

AGEs産生時に酸化反応が行われることが知られているため、抗糖化作用が高いイチゴは抗酸化作用も高いのでは

ないかという仮定をたて、相関関係について検証を行った。x軸に蛍光性AGEs阻害率 [%]、y軸にDPPHラジカル消去活性 [nmol Trolox 当量/mg 固形分量] をプロットした (Fig. 7)。その結果、 R^2 値はそれぞれ -0.0273 (陶片処理水栽培)、0.0278 (通常水栽培) となり、相関関係は認められなかった。

考察

AGEsは生体内で還元糖が蛋白質と非酵素的に結合する糖化反応により産生され、体内に加齢と共に蓄積される。AGEs産生・蓄積の亢進には、血液中におけるグルコースやその代謝物の濃度増加及び代謝酵素の活性低下などが関与しており、事実、糖尿病患者の血液や組織内にはAGEsの蓄積が認められている^{19,20}。

我々はこれまでに500種類以上の植物や食品の抗糖化作用の検証を行ってきた^{8,17,21-23}。また、一般的に果糖の含有量が高いとされる果物についても検証し、イチゴを始めとしたさまざまな果物が抗糖化作用を有していることを報告している⁸。それに加えて近年、品種により抗糖化作用に違いが認められることも報告した²⁴。このことは、品種により含まれる成分に差があることが原因と考えられているが詳細な検証はなされていない。

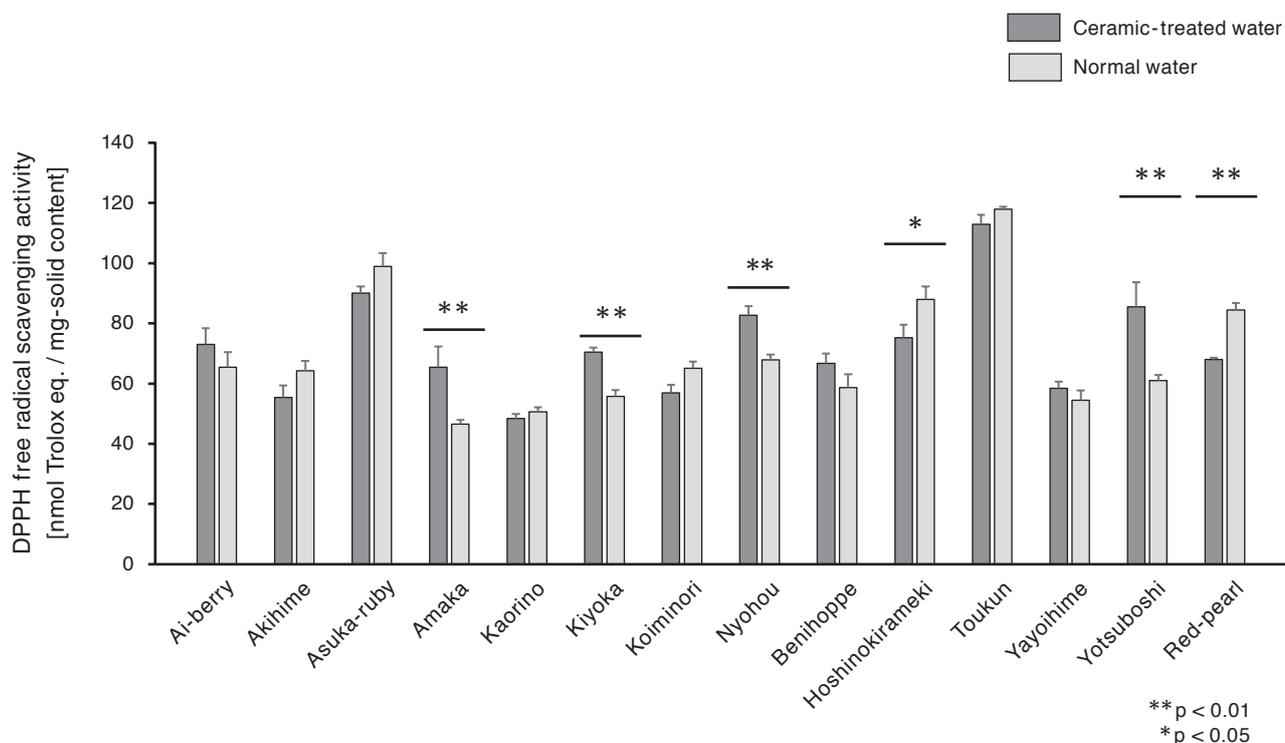


Fig. 4. Differences in antioxidative efficacy between strawberry varieties.

Fourteen variety of strawberry plants were cultivated either ceramic-treated water or normal water. Hot water extracts of each strawberry variety were prepared and used to examine the DPPH radical scavenging activity. All data were shown as the mean ± SD (n = 6). * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ vs. normal water in each variety. DPPH, 2,2-diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl)hydrazyl; SD, standard deviation.

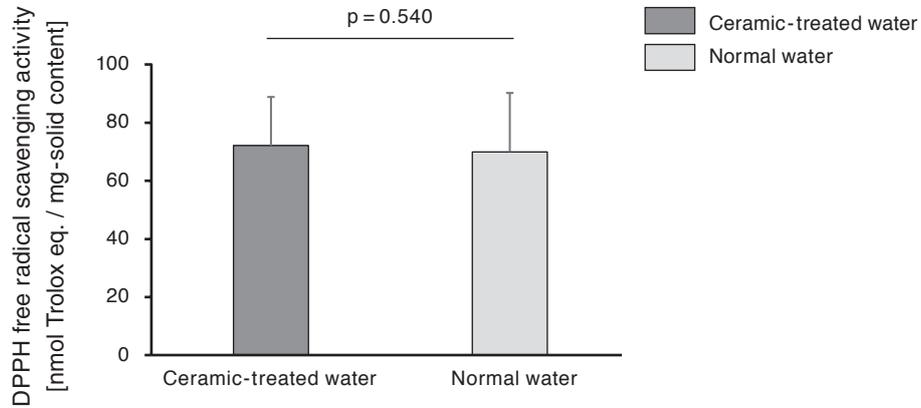


Fig.5. Effect of ceramic-treated water on antioxidative efficacy of strawberry varieties.

Fourteen variety of strawberry plants were cultivated either ceramic-treated water or normal water. Hot water extracts of each strawberry variety were prepared and used to examine the DPPH radical scavenging activity. Paired t-test was conducted to investigate the effect of cultivation water on antioxidative efficacy of strawberries. All data were shown as the mean \pm SD (n = 6). DPPH, 2,2-diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl)hydrazyl; SD, standard deviation.

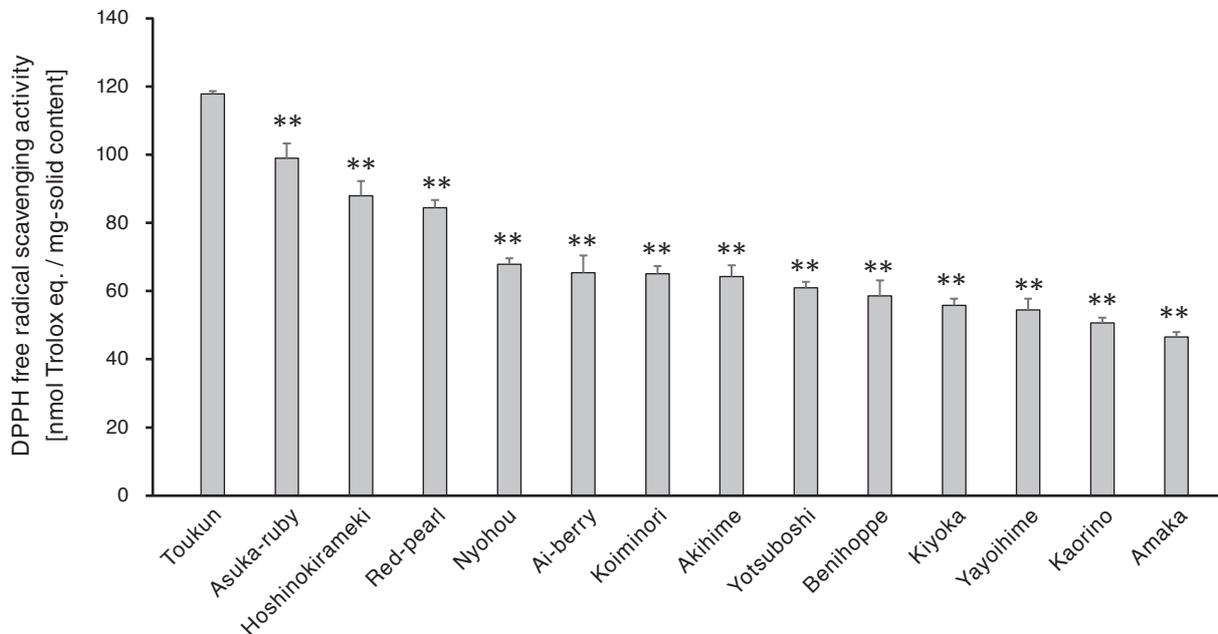


Fig.6. Differences in antioxidative efficacy between strawberry varieties.

Fourteen variety of strawberry plants were cultivated using normal water. Hot water extracts of each strawberry variety were prepared and used to examine the DPPH radical scavenging activity. All data were shown as the mean \pm SD (n = 6). ** p < 0.01 vs. Toukun. SD, standard deviation.

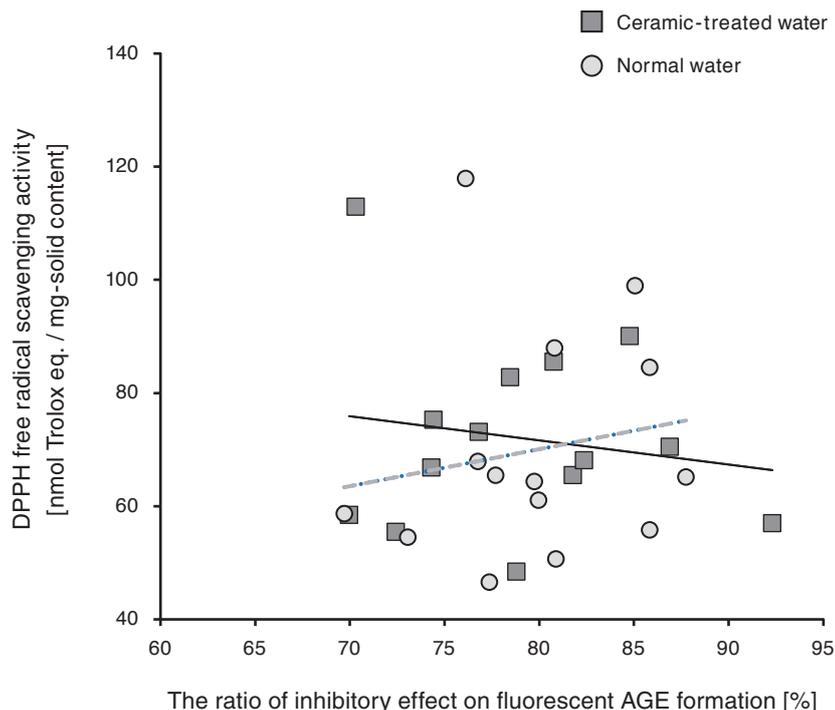


Fig. 7. Correlation between anti-glycative efficacy and antioxidative activity.

The inhibitory effect of fluorescent AGE formation was plotted in X-axis and DPPH radical scavenging activity was plotted in Y-axis. Black line was regression line of ceramic-treated water and gray break line was regression line of normal water. AGE, advanced glycation end product; DPPH, 2,2-diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl)hydrazyl.

イチゴの品種による食品機能の違いについて

通常水を用いて栽培した14品種のイチゴの抗糖化作用、抗酸化作用の結果を基に、品種による差について検証した。全ての品種のイチゴにおいて抗酸化作用、抗糖化作用を有していることが示された (Table 3, Fig. 4)。一方で、品種ごとに詳細な検討を行ったところ、抗糖化作用、抗酸化作用とも品種によって大きな違いが認められた。蛍光性AGEs産生抑制率については、恋みのり (87.8 ± 1.37%) が最も高く、最も低かった紅ほっぺ (69.7 ± 3.80%) 以外にも、四つ星、章姫、アイベリー、あま香、女峰、桃薫、やよい姫の8品種が有意に蛍光性AGEs産生抑制率が低かった (Fig. 3)。抗酸化作用については桃薫が他の13品種に比べ有意に高いDPPHラジカル消去活性を示した (Fig. 6)。この差は、交配の結果、品種ごとに含まれる成分に違いが生じていることによるものと推察されることから、本研究に用いたイチゴ品種の交配履歴について検証した (Table 1)。ほとんどの品種に対して女峰が交配種の1つとして選択されていたものの、強い抗糖化作用・抗酸化作用を示した品種に共通する交配種はなかった。

イチゴに含まれる抗酸化作用物質としてはアントシアニン類やアスコルビン酸が知られている⁸⁻¹⁰⁾。アントシアニンはアントシアニン骨格を持つ配糖体であり定期的で適度な摂取を行うことで心血管疾患、2型糖尿病のリスクの低下および体重維持と神経保護の改善、血管と糖調節機能に対する効果がある²⁵⁾。アントシアニン類の中でもイチゴに

含まれるアグリコンとしてはペラルゴニン、シアニン、マルビジンが報告されている²⁶⁾。しかしながらアントシアニン類は熱により容易に変性する特性を持つ。既報²⁷⁾に基づき比色法を用いてアントシアニン類を測定したが、今回使用したイチゴ熱水抽出液に含まれるアントシアニン類は検出限界以下であった (data not shown)。本法で測定可能であるのは単量体のアントシアニン類に限られていることから、本研究により示されたイチゴ熱水抽出液における抗糖化作用・抗酸化作用を有する成分は単量体のアントシアニン類以外と考えられる。しかしながらそれ以上の詳細は不明である。今後、イチゴの抗糖化作用成分の同定及び品種ごとの含有量の測定を行う必要があると思われる。

陶片処理水栽培がイチゴの食品機能に与える影響について

開発当初、特殊陶器片はシアノバクテリアが生育可能な環境であると考えられており、陶片処理水の水質浄化効果はシアノバクテリアが産生する酸素由来の活性酸素による殺菌作用、植物の生育促進効果は軽度な酸化ストレスが抗酸化システムを増強する適応応答によるものと推測されていた。しかしながら陶片処理水は通常水に比べて酸化還元電位が低いことが報告され、酸素濃度は上昇していないことが示唆された。現在我々は、酸化還元電位低下は、陶片処理水中の溶存水素濃度が上昇していることによるものとの仮説を立てている。水素の発生源としては、水流による

特殊陶器片の振動や特殊陶器片に塗布した釉による触媒的な効果の可能性を考えているが、詳細は不明である。他にも、水素生産菌が特殊陶器片に生育している可能性も考えられるが、水素酸性菌は一般的に嫌気性であるとされており²⁸⁾本条件下で生育可能かについては今後検討の余地がある。水素分子は強い還元能を持ち、直接ヒドロキシルラジカルを消去するだけでなく、細胞内の抗酸化物質の誘導を起こすことにより、活性酸素・フリーラジカルを消去する作用があることが報告されている^{29,30)}。また水素ガス投与は、虚血再灌流による炎症の抑制³¹⁾や細胞老化に対する抑制効果³²⁾など活性酸素・フリーラジカルが関わる傷害への抑制効果を示すことが報告されている。植物の生育に関しては、高濃度の水素を含む水が小松菜の根の成長促進を起こすこと³³⁾、ジベレリンやオーキシンなどの植物成長ホルモンの合成を促進することでキュウリの葉や根の成長促進を起こすこと³⁴⁾が報告されている。我々も、既に陶片処理水を用いた栽培により桃やイネの成長促進作用、果物の糖度の上昇が起こることを示した¹⁵⁾が、本研究では成長促進ではなく陶片処理水栽培によるイチゴの食品機能性の亢進、特に抗糖化作用及び抗酸化作用の亢進の可能性に着目し検証を行った。

14品種のイチゴについて栽培水ごとに対応のあるt検定を行ったところ、抗糖化作用、抗酸化作用とも、陶片処理水栽培による亢進は認められなかった (Fig. 2, 5)。但し品種ごとに検証したところ、抗糖化作用については恋みのり ($p = 0.024$) 1品種のみであったが陶片処理水による有意な亢進を示した。それ以外ではあまかにやや亢進の傾向が認められた ($p = 0.062$) もの、章姫は通常水栽培のほうが蛍光性AGEs産生抑制率は高い傾向にあった ($p = 0.071$, Table 3)。他の11品種に関しては効果が認められなかった。抗酸化作用については、あまか、清香、女峰、四つ星の4品種が陶片処理水栽培による有意なDPPHラジカル消去活性の亢進を示した。その一方で、星のきらめき、レッドパールは陶片処理水によりDPPHラジカル消去活性が有意に低くなった (Fig. 4)。以上のことから、陶片処理水の影響を受ける品種は限定的であることが示された。その理由として我々は品種によって酸化ストレスへの応答性が異なることが原因ではないかと考えている。本研究で用いた陶片

処理水に含まれる溶存水素濃度では、酸化ストレスに弱い品種には不十分であった、或いは成長促進作用や抗酸化に関わる遺伝子の発現亢進には不十分であったため、結果として食品機能の促進などの効果として反映されなかった可能性が考えられる。また、本研究では陶片処理装置を垂直に設置できなかったため水の一部が陶片に接触せず、本来より低い溶存水素濃度であった可能性もある。今後は陶片処理装置を垂直に固定したうえで栽培し、陶片処理水栽培時における植物の成長ホルモン量や抗酸化酵素などの発現量の違いについて品種ごとの比較検証を行う必要がある。併せて、イチゴに含まれる抗糖化作用成分、抗酸化作用成分の同定及び量の変化に関する検証も今後の課題である。今後、持続的な陶片処理水の使用により、本研究で陶片処理水の影響を受けなかった品種の食品機能が亢進するかにしても検証する必要があると考えられる。

結語

本研究で用いた14品種のイチゴ全てに抗糖化作用及び抗酸化作用が認められた。しかしながら栽培水の違いによる抗糖化作用・抗酸化作用の変化については品種により挙動が異なっていたことから、陶片処理水による効果は特定の品種に限定される可能性が示された。

謝辞

本研究は静岡理工科大学先端機器分析センターの共用設備/機器を利用した成果である。また、本研究の発表にあたり一般財団法人 医食同源生薬研究財団より支援を受けた。

利益相反申告

本研究について利益相反に該当する事項はない。

参考文献

- 1) Negre-Salvayre A, Salvayre R, Augé N, et al. Hyperglycemia and glycation in diabetic complications. *Antioxid Redox Signal*. 2009; 11: 3071-3109.
- 2) Kan H, Yamagishi S, Ojima A, et al. Elevation of serum levels of advanced glycation end products in patients with non-B or non-C hepatocellular carcinoma. *J Clin Lab Anal*. 2015; 29: 480-484.
- 3) Vlassara H, Striker GE. Advanced glycation endproducts in diabetes and diabetic complications. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2013; 42: 697-719.
- 4) Yamagishi S. Role of advanced glycation end products (AGEs) in osteoporosis in diabetes. *Curr Drug Targets*. 2011; 12: 2096-2102.
- 5) Ward MS, Fortheringham AK, Cooper ME, et al. Targeting advanced glycation endproducts and mitochondrial dysfunction in cardiovascular disease. *Curr Opin Pharmacol*. 2013; 13: 654-661.
- 6) Zakaria MN, El-Bassossy HM, Barakat W. Targeting AGEs signaling ameliorates central nervous system diabetic complications in rats. *Adv Pharmacol Sci*. 2015; 2015: 346259.

- 7) Takeuchi M, Yamagishi S. Possible involvement of advanced glycation end-products (AGEs) in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Curr Pharm Des.* 2008; 14: 973-978.
- 8) Parengkuan L, Yagi M, Matsushima M, et al. Antigli-cation activity of various fruits. *Anti-Aging Med.* 2013; 10: 70-76.
- 9) Stintzing FC, Carle R. Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends in Food Science and Technology.* 2004; 15: 19-38.
- 10) 松添直隆, 川信修治, 松本幸子, 他. 夜温がイチゴ果実の糖, 有機酸, アミノ酸アスコルビン酸, アントシアニンおよびエラグ酸濃度に及ぼす影響. *植物環境工学.* 2006; 18: 115-122.
- 11) Benvenuti S, Pellati F, Melegari M, et al. Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid and radical scavenging activity of rubus, ribes, and aronia. *Journal of Food Science.* 2004; 69: FCT164-169.
- 12) 農林水産省品種登録ホームページ (<http://www.hinshu2.maff.go.jp/>) (accessed on 26 Jun 2022).
- 13) Bazzano LA, Li TY, Joshipura KJ, et al. Intake of fruit, vegetables, and fruit juices and risk of diabetes in women. *Diabetes Care.* 2008; 31: 1311-1317.
- 14) Yonei Y, Haasbroek K, Yagi M, et al. Water quality improvement effect from the installation of special-glaze-applied ceramics: Benten Pond, Ichikawa, Chiba, Japan. *Glycative Stress Res.* 2021; 8: 20-28.
- 15) Hasegawa T, Sugiura S, Asano M, et al. Cyanobacterium proliferative actions by special-glaze-applied ceramic pieces and their utilization. *Glycative stress Res.* 2020; 7: 88-104.
- 16) Takabe W, Yamaguchi T, Hayashi H, et al. Identification of antiglycative compounds in Japanese red water pepper (red leaf variant of the *Persicaria hydropiper* sprout). *Molecules.* 2018; 23: 2319.
- 17) Ishioka Y, Yagi M, Ogura M, et al. Antiglycation effect of various vegetables: Inhibition of advanced glycation end product formation in glucose and human serum albumin reaction system. *Glycative Stress Res.* 2015; 2: 22-34
- 18) 沖 智之. 食品機能性評価マニュアル集第Ⅱ集 社団法人日本食品科学工学会. 2007; 71-78.
- 19) Kilhovd BK, Berg TJ, Birkeland KI, et al. Serum levels of advanced glycation end products are increased in patients with type 2 diabetes and coronary heart disease. *Diabetes Care.* 1999; 22: 1543-1548.
- 20) Saito M, Marumo K. Collagen cross-links as a determinant of bone quality: A possible explanation for bone fragility in aging, osteoporosis, and diabetes mellitus. *Osteoporos Int.* 2010; 21: 195-214.
- 21) Hori M, Yagi M, Nomoto K, et al. Inhibition of advanced glycation end product formation by herbal teas and its relation to anti-skin aging. *Anti-Aging Med.* 2012; 9: 135-148.
- 22) Moniruzzaman M, Parengkuan L, Yagi M, et al. Effect of proteins, sugars and extraction methods on the antiglycation activity of spices. *Glycative Stress Res.* 2015; 2: 129-139.
- 23) Otake K, Yagi M, Takabe W, et al. Effect of tea (*Camellia sinensis*) and herbs on advanced glycation endproduct formation and the influence of post-fermentation. *Glycative Stress Res.* 2015; 2: 156-162.
- 24) Wickramasinghe UPP, Yagi M, Yonei Y. Anti-glycative effect and total phenolic content of rice water of different Japonica and Indica varieties. *Glycative Stress Res.* 2021; 8: 162-170.
- 25) Kalt W, Cassidy A, Howard LR, et al. Recent research on the health benefits of blueberries and their anthocyanins. *Adv Nutr.* 2020; 11: 224-236.
- 26) Lopes da Silva F, Escribano-Bailon MT, Perez-Alonso JJ, et al. Anthocyanin pigments in strawberry. *Food Science and Technology.* 2007; 40: 374-382.
- 27) Lee J, Durst RW, Wrolstad RE. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. *J AOAC Int.* 2005; 88: 1269-1278.
- 28) 堆 洋平, 李 玉友, 原田秀樹. 嫌気性水素発酵による有機性排水からの水素生産に関する研究の動向. *日本水処理生物学会誌.* 2008; 44: 57-75.
- 29) Dixon BJ, Tang J, Zhang JH. The evolution of molecular hydrogen: A noteworthy potential therapy with clinical significance. *Med Gas Res.* 2013; 3: 10.
- 30) Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K, et al. Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals. *Nat Med.* 2007; 13: 688-694.
- 31) Watanabe M, Kamimura N, Iuchi K, et al. Protective effect of hydrogen gas inhalation on muscular damage using a mouse hindlimb ischemia-reperfusion injury model. *Plast Reconstr Surg.* 2017; 140: 1195-1206.
- 32) Hara F, Tatebe J, Watanabe I, et al. Molecular hydrogen alleviates cellular senescence in endothelial cells. *Circ J.* 2016; 80: 2037-2046.
- 33) Hamauzu Y, Ishikawa K, Morisawa S. Effects of deoxidized nutrient solution on growth of komatsuna (*Brassica rapa* var. *perviridis*) plants. *Environmental Control in Biology.* 2014; 52: 107-111.
- 34) Wu Q, Su N, Huang X, et al. Hydrogen-rich water promotes elongation of hypocotyls and roots in plants through mediating the level of endogenous gibberellin and auxin. *Funct Plant Biol.* 2020; 47: 771-778.