

“機能水”の生体機能賦活化への微量元素の関与

鈴木 鐵也¹⁾・土井 宏育¹⁾・下野 功²⁾・高間 浩蔵¹⁾
(¹⁾北海道大学水産学部海洋生物資源化学科*, ²⁾北海道立工業技術センター**)

Participation of Trace Minerals to Physiological Functionality of “Functional Water”

Tetsuya SUZUKI¹⁾, Hiroyasu DOI¹⁾, Isao SHIMONO²⁾, and Kozo TAKAMA¹⁾

¹⁾Hokkaido University, Faculty of Fisheries, Department of Marine Bioresources Chemistry, ²⁾Hokkaido Industrial Technology Center, Division of Material Science

“Functional Water” can be defined as either artificially or non-artificially processed water species which exert physical characteristics and/or physiological functionality that can not be observed in original water species without processing. The “Functional Water” species are brought forth by physical and/or chemical treatment such as electromagnetic field loading, contact with ceramics, etc. In the present study, authors examined whether or not so-called “Functional Water” materials really gave water physiological functionality by using bioassay with *Euglena gracilis* Z in connection with trace element analyses. “Functional Water” species examined in the present study were : 1) loaded high voltage electric field in the presence of wood ceramics (CW), 2) ceramics comprising calcium triphosphate and mica, 3) processed tourmaline particles, 4) a piezoelectric element comprising Ti, Pb and Zr (PZT), and 5) ceramics composed of aluminum and iron (Alumina-Fe ceramics). The “Functional Water” species given rise by immersing those materials and/or electric field loading were examined the effect of cell motility restoration on the tributyl-tin chloride (TBTCl)-intoxicated *Euglena gracilis* Z. Remarkable effect was observed for CW and Alumina-Fe ceramics treated water. Common trace elements among effective water species were Ca, Mg and Fe, which suggest some important roles of those elements in exerting physiological functionality, i. e., in this case detoxication of TBTCl, regeneration of flagella and subsequent supply of driving force.

最近、水に関する関心が健康、食品、環境などとの関わりでとみに高まっている。水は長い間、私たちにとって空気と並んで余りにも身近な存在であった為に、ほとんど注意が払われていなかった。その

*所在地：函館市港町3-1-1 (〒041)

**所在地：函館市桔梗町379 (〒041)

うえ、 H_2O という単純な化学式のゆえに、あたかも全てが判ってしまったようなつもりになっていた。これまで多数の優れた著書、研究報告が水の特性・構造・機能の本質に迫ろうとしている。それでも尚判らない部分が多く残されている。最近この水にこれまで知られていなかった機能を有する“機能水”と言われる水が次々と紹介されている¹⁾。例えば、何年放置しても腐らない水、殺菌力を示す水、植物の発芽・発育を促進する水、生鮮食品の鮮度を保持する水、等々である²⁾。

先に我々は、備長炭浸漬下、交流高電圧電場を負荷した水がトリブチルスズ (TBT) による障害を受けた *Euglena gracilis* Z 細胞の鞭毛再生と遊泳能の回復を促進することを報告し、その効果発現への微量元素の関与の可能性を示唆した³⁾。今回は機能水を調製するいくつかの素材から得た水を用い、TBT 障害を受けた *Euglena* 細胞の鞭毛再生遊泳能回復を指標に“機能水”の機能性発現における微量元素の関与について比較し、“機能水”の機能発現に関与する共通項を見い出すことを試みた。

材料と方法

機能水素材

“機能水”とは物理的、化学的処理により生物学的な観点からその処理を施す前と明らかに異なる効果を示す水と定義できる。本研究では、“機能水”を与えるとされている素材 5 種類から得た水について比較検討した。

すなわち、1) 蒸留水に対し重量比にして備長炭 5% を浸漬し、室温 (20度)、相対湿度 60% のもと、交流電位 2.3kV、漏洩電流 $50\mu A$ の条件下 15 時間 A 社製の交流電場負荷装置*にて電場負荷を行った水 (以後 CW と略称) ; 2) B 社製のトリリン酸カルシウム雲母焼結セラミック (以後バイオセラミックと略称)、3) C 社製のトルマリン造粒物 [基本化学構造 $3 \{NaX_3 Al_6 (BO_3)_3 Si_6 O_{18} (OHF)_4\}$ X=Mg, Fe, Li, Al など] (以後トルマリンと略称)、4) D 社製のチタン酸・ジルコン酸鉛素子 (以下 PZT と略称)、および 5) E 社製の α アルミナと微量の鉄よりなるセラミック造粒物 (以後アルミナ鉄セラミックと略称) である。なお、機能性を示すとも言われている中空糸膜ろ過器でろ過した水の機能性の有無についても調べた。

“機能水”の調製

CW については上述のとおりである。バイオセラミック、トルマリン、PZT、アルミナ鉄セラミック水については、それぞれ蒸留水に対して 5~10% (重量比) の素材を浸漬し、12~15 時間静置後、0.45 μm のミリポアフィルターでろ過したものを、実験の直前に調製して用いた。

機能性素材ならびに各素材で処理した水の成分分析

機能水を与えるとされている素材、すなわち備長炭、バイオセラミック、トルマリン、PZT、アルミナ鉄セラミックを構成する成分の分析には、日立製作所の X-650 を用いた X 線マイクロアナライザーおよび SEM (走査型電子顕微鏡) による表面結晶構造の解析法によった。

試料は一定の大きさに切断し、試料ステージにカーボンテープで固定し、金蒸着した試料を分析に供し加速度電圧 25kV で測定した。さらに X 線回折による試料中の化合物の同定を日本電子の JDX-8020 を用いて行った。

同定は銅のターゲットを用い、 2θ を 50° - 70° とし、サンプルホルダーに粉末状にした試料を充填し、管球電圧を40kV、電流を25mAに設定して測定した。

物質の同定は、測定した試料の回折図形とJCPDS (Joint Committee on Powder Diffraction Standards) カードにファイルされている既知物質の回折図形とを比較することによって行った。

機能性素材で処理した水に含まれる微量元素の分析には、ヒューレットパッカード；ICP-MS (高周波プラズマ質量分析装置)、横河アナリティカルシステムズ；PMS-2000で測定した。

Euglena gracilis Z 細胞に対する TBT による障害負荷と機能水による遊泳能回復率アッセイ

Euglena gracilis Z 細胞に対する TBT による細胞障害の発現と細胞遊泳能の回復率のアッセイは前報^{4),5)}に準じて行った。なお、遊泳能回復効果を評価するために対照として基本培地⁶⁾ (0.08M KCl, 0.08M NaCl, 0.5mM Na₂-EDTA, 5mM Dithiothreitol, 2% (w/v) polyethylene glycol (MW 15k~20k), 10mM KH₂PO₄, 20mM HEPES buffer, pH 6.4), さらに TBT 排除と鞭毛再生ならびに遊泳能の回復への ATP, Ca, Mg の関与を調べる目的で基本培地 + 5 mM ATP, 基本培地 + 5 mM ATP + 5 mM CaCl₂, 基本培地 + 5 mM ATP + 5 mM MgCl₂, 基本培地 + 5 mM ATP + 5 mM CaCl₂ + MgCl₂ 培地を用いての実験も行った。

結果と考察

機能水素材の構成成分

今回 TBT 障害を受けた *Euglena gracilis* Z の遊泳能回復に対する“機能水”の機能性を比較検討した素材について X 線マイクロアナライザーと X 線回折法により分析した結果を表 1 に示す。

各種機能水素材処理水の *Euglena gracilis* Z の遊泳能回復効果

いわゆる“機能水”を作ると言われている素材を用いて調製した水の *Euglena gracilis* Z の遊泳能回復効果の有無を比較検討した結果を表 2, 3 に示す。

表 2 から判るように、機能水と称される水の全てが TBTCI で障害を受けた細胞の遊泳能回復に等しく有効と言うわけではない。有効と敢えて評価出来る“機能水”は、今回の実験では交流高圧電場負荷水 (CW) の 23.3% とアルミナ鉄を主成分とするセラミックの 53.7% であった。興味深いことに、超純水を得るために用いられる中空糸膜を通過させた水でも 10% 近い遊泳能回復効果を示した。

Table 1. Elements Comprising Functional Water Materials

Functional Water Materials	Identified Chemical Formula
Bioceramic	Ca ₃ (PO ₄) ₂ · nH ₂ O (Calcium triphosphate) (K _{0.98} Na _{0.04})Mg _{2.97} (Al _{1.02} Si _{2.98})O _{9.9} F _{1.94} (OH) _{0.16} (Pica)
Tourmaline Particles	α-Al ₂ O ₃ , FeAl ₂ O ₄
Alumina-Fe Ceramics	α-Al ₂ O ₃
PZT	Pb(Zr _{0.52} Ti _{0.48})O ₃

Major elements in the materials to bring “functional water” were identified by X-ray microanalysis and X-ray diffraction method.

Table 2. Comparison of Motility Restoration Potential on TBTCI-intoxicated *Englena gracilis* Z cells by "Functional Water" Species

Water Species	Motile cell %, 2 hours after treatment
Hollow Fiber Water	9.4
Charged Water (CW)	23.3
Bioceramic Water	5.0
Tourmaline Water	4.2
PZT Water	7.4
Alumina-Fe Ceramic	53.7

Data represented are average values obtained from 4 measurements. Motility percent was calculated dividing motile cell numbers by the total cell numbers at 2 hours after treatment with "functional water" species. Cells were observed and recorded under the Olympus inverted microscope, type IMT-2 equipped with CCD camera and ARGUS-100 data processor (Hamamatsu Photonics, Hamamatsu) and SONY videoprinter.

Table 3. Examination on Recovery of Cell Motility by ATP, Ca and Mg

Medium	Recovery of Motility (%)
Basal Medium	nil
BM + 5mM ATP	nil
BM + 5mM ATP + 5mM CaCl ₂	nil
BM + 5mM ATP + 5mM MgCl ₂	nil
BM + 5mM ATP + 5mM CaCl ₂ + 5mM MgCl ₂	nil

Basal Medium [BM] : 80mM KCl, 80mM NaCl, 0.5mM Na₂-EDTA, 5mM DTT, 2% (w/v) PEG, 10mM KH₂PO₄, 20mM HEPES (pH 6.4)

“機能水”に含まれる主要元素を Fig. 1 に示したが、遊泳能回復効果の高い水には Ca, Mg, Na および Fe が含まれていることが判る。なかでもアルミナ鉄セラミック処理水には、9.8ppm、電場負荷水からは2.9ppm の Ca が検出された。Ca は刺激に応答して鞭毛を脱離する際の刺激伝達系に必須であり、G-タンパク質とイノシトールリン酸が関与しているものであることが、*Chlamydomonas reinhardtii*⁷⁾、*Englena gracilis*⁸⁾ で明らかにされている。また、鞭毛再生にも Ca は重要な役割を果たしていることがわかっている⁹⁾。

一方、表3には、Fig. 1 ならびに前報³⁾の結果から遊泳能の回復に関与していることが予想される元素である Ca, Mg ならびにエネルギー供給源である ATP の遊泳能回復に対する添加効果を示した。表3からも明らかなように、鞭毛運動評価に通常用いられている基本培地組成での反応では、遊泳能の回復は全く認められなかった。また、基本培地に ATP, CaCl₂, MgCl₂ を個別あるいは一緒に添加しても遊泳能の回復には効果はなかった。ちなみに、TBTCI が細胞外へ排除されなければ遊泳能の回復はない⁴⁾。この結果は、ATP, CaCl₂, MgCl₂ いずれも *Englena gracilis* Z 細胞に取り込まれた、あるいは細胞に附着している TBTCI を排除しえないことを示唆するものである。

アルミナ鉄セラミック処理水や交流高電圧電場負荷水で有意の遊泳能回復効果が認められた事実は、

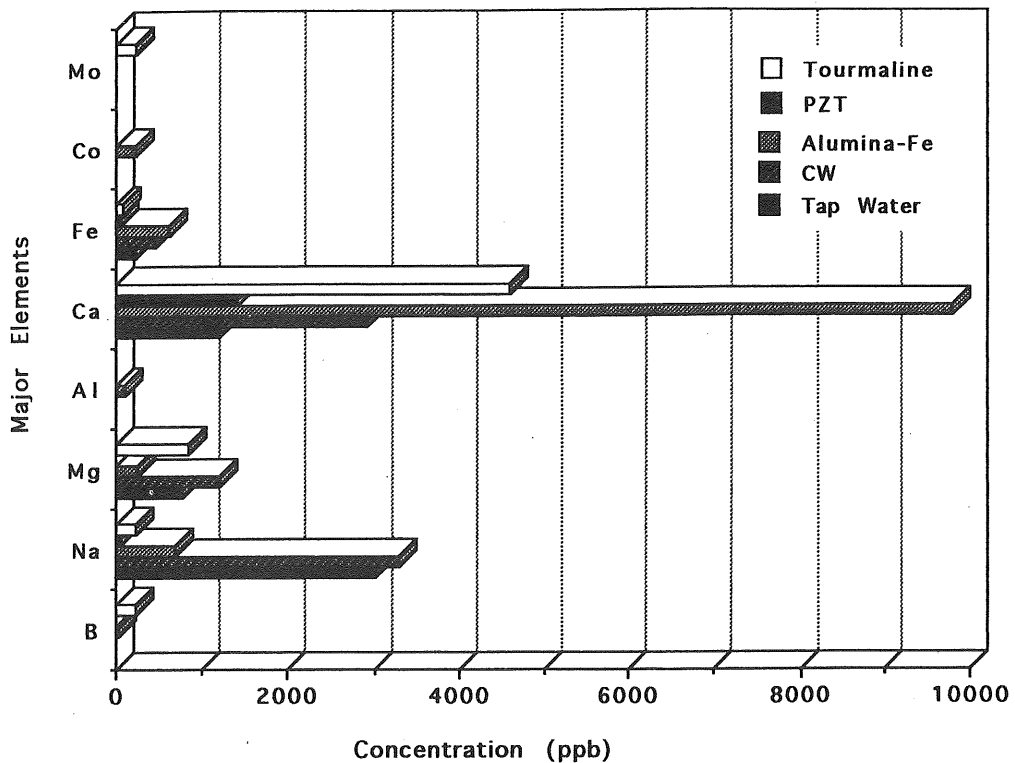


Figure 1. Major Elements in the Water Species Treated with Functional Water Materials

Elements in the water species were identified and quantified by ICP-MS (Yokokawa Analytical Systems). Data are represented as ppb. Major elements in the Tap water of Hakodate-City are shown as the control for "Functional Water". Motility restoration by the tap water was below 5% (data not shown).

Abbreviation : CW, electrostatic field loaded water in the presence of wood ceramic called Binchotan ; Alumina-Fe, Aluminum based ceramics with trace amount of iron. PZT and Tourmaline are the same as shown in the Table 2. Data for water species filtered through Hollow fiber and those for Bioceramic treated water species are not shown.

これらの水に鞭毛再生以外に、最も重要な因子である TBTCI の排除に關与する機能があることを示すものであるが、それは単に微量元素の關与というよりも微量元素と水分子との 3 次元的配位、すなわち水和クラスレート構造が關与しているとも考えられる。さらに、TBTCI の排除には微量元素としての鉄とアルミナ、水分子との關与も十分考えられる¹⁰⁾。また、Ca 濃度も鞭毛の再生に重要な関わりをもつことが *Chlamydomonas* では知られており⁷⁾、*Euglena* 細胞でも同様な關与が考えられる。その詳細な機構については、現在検討中である。

*本論文の内容が商売を目的とする特定の企業などの宣伝あるいはそれに類する行為に利用、悪用されるのを防ぐため、敢えて製品名、商標名は伏せさせていただいた。

文 献

- 1) 岩元睦夫 (1991) 食品と開発 26 : 3
- 2) 鈴木鐵也 (1995) 食品加工技術 15 : 113
- 3) 鈴木鐵也, 福永健治, 高間浩蔵, 岡村睦雄, 大野淳吉, 田中達郎 (1992) 微量栄養素研究 9 : 181
- 4) Suzuki, T., N. Takahashi, K. Fukunaga, M. Okamura, T. Tanaka, K. Takama (1993) Environm. Toxicol. Water Qual. 8 : 207
- 5) 鈴木鐵也 (1993) 食品加工技術 13 (1) : 44
- 6) Gasque C. E. (1989) Microtubule-based Cell Motility, In "A Manual of laboratory Experiences in Cell Biology", (ed. Gasque, L. E.) , p. 241~273, Wm Brown Publishers, Dubque, Iowa, U. S. A.
- 7) Quarmby L. M. Y. G. Yue J. L. Chesire L. R. Keller W. J. Snell Crain, R. C. (1992) J. Cell Biol. 116 : 737
- 8) 増田渉, 竹中重雄, 宮武和孝, 中野長久 (1995) 日本農芸化学会誌69 : 126。
- 9) Clapham D. E. (1995) Cell 80 : 259
- 10) Parton R. F., I. F. J. Vankelecom, M. J. A. Casselman, C. P. Bezonkhanova, J. B. Uytterhoeven & P. A. Jacobs (1994) Nature 370 : 541