

ラットにおける運動前のクエン酸および酢酸投与が血中乳酸値に及ぼす影響

林 あつみ*・関目 綾子**・木元 幸一***

(平成 27 年 1 月 7 日査読受理日)

Effect of Pre-exercise Citric Acid and Acetic Acid Administration on Blood Lactate Concentration in Rats

HAYASHI, Atsumi SEKIME, Ayako And KIMOTO, Koichi

(Accepted for publication 7 January 2015)

キーワード：乳酸，水泳，トレッドミル，クエン酸，酢酸

Key words : lactic acid, swimming, treadmill, citric acid, acetic acid

1. 緒言

健康づくりのための運動施策として、厚生労働省では「健康づくりのための身体活動基準 2013」を策定し、身体活動の普及啓発に取り組んでいる。国民にも健康の維持増進や生活習慣病予防のために運動習慣が必要であることは広く認識されてきている。しかし平成 24 年国民健康・栄養調査結果によると、歩数については男性 7,139 歩/日、女性 6,257 歩/日と健康日本 21 の目標値よりいずれも 2,000 歩以上少ない結果となっている。また、運動習慣のある者の割合は 30～40 歳代男性で 2 割程度、20～40 歳代女性では 2 割を下回っている。特に働き盛りの年代で運動量が少ない結果となっており、限られた時間の中で運動を効果的に行う方法を見出すことができれば、運動習慣の増加につながる事が期待される。

乳酸は、エネルギー産生における解糖系の最終産物で疲労物質の一つとして捉えられてきたが、現在では疲労の原因物質はカリウムやリン酸の蓄積、活性酸素¹⁾や TGF- β ²⁾など多くの要因が複合的に関与していることがわかってきている。血中乳酸濃度が高いということは、食事由来の糖質や筋肉に貯蔵されているグリコーゲンがエネルギー源として燃焼したということであり、運動強度が高い時に増加する。この場合、身体にとってはきつい運動であることを意味し、ストレス状態となる³⁾⁴⁾。解糖によって生じた乳酸は糖新生の重要な基質であり、最終的にはクエン酸回路に入り酸化反応に利用される。すなわち、乳酸値の上昇を抑制することは身体への負担を軽減するため、運動の

持続において有効である。

スポーツ選手における競技力向上のための栄養補給については数多く研究がなされており^{5)~7)}、パフォーマンス後の速やかなグリコーゲンや疲労の回復には運動直後の糖質とクエン酸補給が有効であることが知られている⁸⁾。本研究では、運動習慣のないラットを用いて水泳およびトレッドミル運動時において乳酸値を上げずに有酸素的な代謝系に移行させることのできる酸の補給について検討を行った。酸試料としてクエン酸と酢酸を用い、トレッドミル運動については訓練した場合との比較検討を行った。さらに、酢酸を主成分とする市販の食酢のうち比較的摂取しやすい黒酢とリンゴ酢について同様の運動条件で検討を行った。黒酢はアミノ酸を多く含有するためまろやかな食味を呈し、リンゴ酢はリンゴ果汁から製造され、酢酸の他に原料由来のリンゴ酸やクエン酸を含有している。また摂取のタイミングについては、運動後に糖質とともにクエン酸⁹⁾¹⁰⁾や酢酸¹¹⁾を補給することによる血中乳酸値の低下効果についてはすでに報告されている。今回は、健康維持増進のために限られた時間の中で効果的に運動を行う方法を探ることを目的として、運動前の各試料の投与による血中乳酸値に及ぼす影響について検討を行った。

2. 研究方法

2.1 実験動物

4 週齢雄性 Wistar ラットを東京実験動物株式会社（東京）より購入し、標準固形飼料 CE2（日本クレア株式会社、東京）にて 1 週間以上の予備飼育後、5 週齢から 11 週齢の間で実験に供した。飼育環境は室温 23±2℃、湿度 55±5%、12 時間の明暗周期（明期 8～12 時）に管理し、飼料と水は自由摂取させた。実験動物の取り扱いは、2006

* 栄養学研究室

** 川村学園女子大学

*** 栄養生化学研究室

年環境省告示第88号「実験動物の飼養および保管並びに苦痛の軽減に関する基準」を遵守して行った。

2.2 投与試料

クエン酸および酢酸（和光純薬株式会社，大阪）は酸度が10%となるように純水に溶解し，0.4g/kg体重となるように投与した¹⁰⁾。黒酢（キューピー醸造株式会社，東京）は酸度3.5%，リンゴ酢（私市醸造株式会社，千葉）は酸度5.0%のものを原液で4mL/kg体重となるように用いた。これら酸試料の投与は，安静時の乳酸値測定後，各運動直前に経口ゾンデを用いることにより行った。

2.3 運動方法

2.3.1 水泳運動

ラット5匹を用いた。各酸試料を投与後，35℃の水を入れた水槽（縦29×横42×深さ29cm）で1分間遊泳させた。運動時間はラットが水に沈む時間が長くなり極度のストレス状態にならないように設定した。1週間以上の休止期間において各ラットに異なる酸試料をランダムに投与し同様に遊泳させた。

2.3.2 トレッドミル運動

ラット5匹に酸試料を投与後，トレッドミル Panlab 社 LE8706（バイオリサーチセンター，名古屋）を用いて40～65cm/secで2分間運動させた。1週間以上の休止期間において異なる酸試料を投与し，同様にトレッドミル運動を負荷した。

訓練群25匹には，実験前の1週目に5～20cm/sec，2週目に20～30cm/sec，3週目に30～55cm/secで1日30分毎日訓練を行った後，4週目の測定時に各酸試料を5匹ずつ投与後，40～65cm/secで2分間運動させた。残りの5匹はコントロール群とした。

2.4 乳酸値の測定

血中乳酸値の測定には，ラクテート・プロ LT-1710（アークレイ株式会社，京都）を用いた。運動前に18Gの注射針を用いて尾部先端穿刺により採血し，安静時の乳酸値を測定した。水泳あるいはトレッドミル運動負荷後，1，4，7，10分後に乳酸値を測定した。

2.5 統計処理

データは運動前の乳酸値からの差を求め，平均値±標準偏差で表した。コントロール値との比較は，F検定により等分散性を検定後，t検定により有意差検定を行った。有意性の基準は5%以下とした。

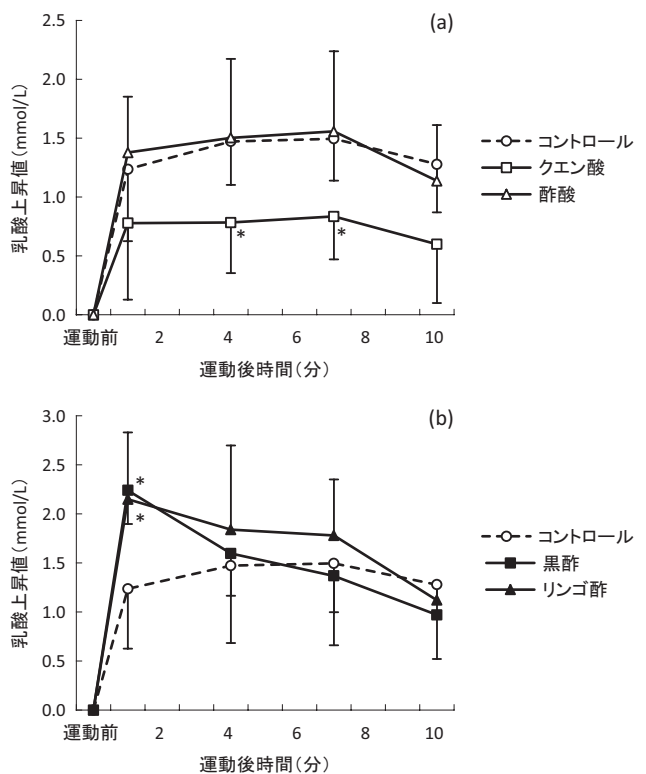
3. 研究結果

3.1 水泳運動による各酸試料投与の影響

運動前安静時の血中乳酸値は 1.51 ± 0.55 mmol/L，運動後の最大値は 3.01 ± 0.68 mmol/Lであった。図1には，運動前安静時の値との差を求めた結果を示した。(a)は，クエン酸および酢酸投与後に水泳運動を1分間行った結果である。酢酸投与群ではコントロール値との差はみられなかったが，クエン酸投与により運動後4および7分の乳酸値が有意に低下した。(b)には黒酢およびリンゴ酢投与による結果を示した。いずれの結果も運動後1分でコントロール値より上昇し，その後は有意な差はみられなかった。

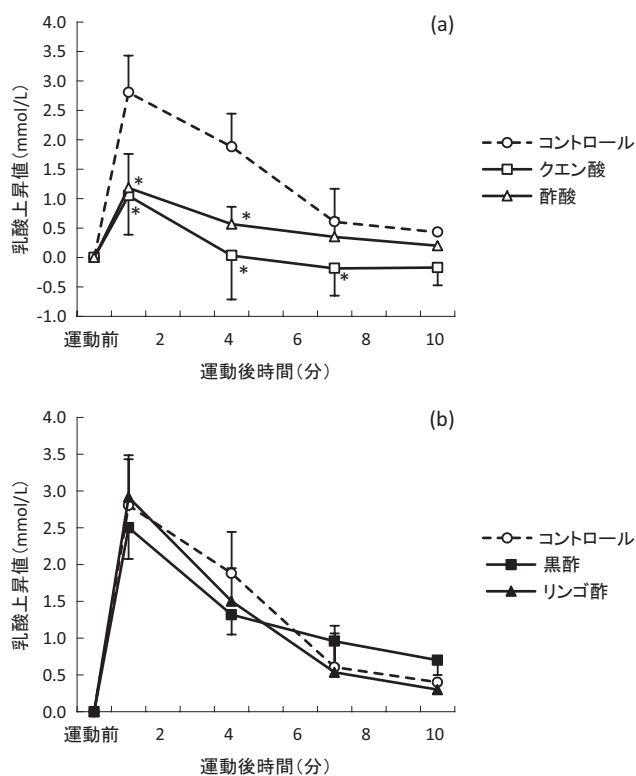
3.2 トレッドミル運動における各酸試料投与の影響

運動前安静時の血中乳酸値は 1.63 ± 0.54 mmol/L，運動後の最大値は 5.88 ± 2.88 mmol/Lとなった。図2には運動前安静時の乳酸値との差を示した。運動1分後の乳酸値は水泳時よりも高くなり，クエン酸投与により運動後1，4および7分後には有意に低下した。酢酸では運動後1および4分後に有意な低下を示した(a)。また，黒酢およびリ



*p<0.05 コントロール値との有意差

図1 水泳運動による各種酸投与による血中乳酸値に及ぼす影響
安静時の血中乳酸濃度測定後，水槽（42×29×29cm）に35℃の水を入れ，1分間遊泳させた。各種酸の投与は運動直前とし，運動1，4，7，10分後に乳酸値の測定を行った。(a) ○；コントロール，□；クエン酸，△；酢酸，(b) ■；黒酢，▲；リンゴ酢。データはn=5の平均±標準偏差で表し，コントロール値との有意性の基準は5%以下とした。



*p<0.05 コントロール値との有意差

図2 トレッドミル非訓練群における各種酸投与による血中乳酸値の変化

安静時の血中乳酸値測定後、トレッドミルを用いて40～65cm/secで2分間走行させた。各種酸の投与は運動直前とし、運動1, 4, 7, 10分後に乳酸値の測定を行った。(a) ○; コントロール, □; クエン酸, △; 酢酸, (b) ■; 黒酢, ▲; リンゴ酢。データはn=5の平均±標準偏差で表し、コントロール値との有意性の基準は5%以下とした。

ンゴ酢の投与ではコントロール値との差はみられなかった(b)。

3.3 トレッドミル訓練群における各酸試料投与の影響

トレッドミルによる低速からの訓練をあらかじめ行ったコントロール群の運動前安静時乳酸値は1.30±1.34mmol/L、運動後の最大値は3.40±1.00mmol/Lとなった。図3(a)に示したように、クエン酸および酢酸投与により4, 7および10分後の乳酸値が低下傾向にあったが有意差ではなかった。黒酢およびリンゴ酢投与では、コントロール群との間に有意な差はみられなかった(b)。

4. 考察

2009年に実施された体力・スポーツに関する世論調査(内閣府大臣官房政府広報室)によると、運動やスポーツを行わなかった理由として「仕事(家事・育児)が忙しくて時間が無いから」を挙げた者の割合が約半数を占め、日常生活において運動を継続することは難しいことがわかる。いつでも時間の空いた時に効果的に運動を持続できる方法

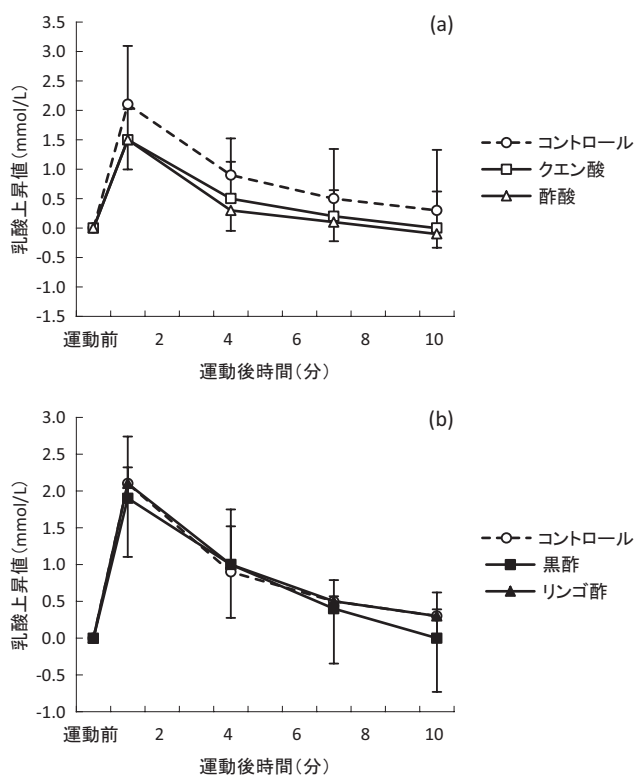


図3 トレッドミル訓練群における各種酸投与による血中乳酸値の変化

トレッドミルを用いて実験前の1週目に5～20cm/sec、2週目に20～30cm/sec、3週目に30～55cm/secで1日30分毎日訓練を行った後、4週目の測定時に安静時の血中乳酸値測定後、40～65cm/secで2分間走行させた。各種酸の投与は運動直前とし、運動1, 4, 7, 10分後に乳酸値の測定を行った。(a) ○; コントロール, □; クエン酸, △; 酢酸, (b) ■; 黒酢, ▲; リンゴ酢。データはn=5の平均±標準偏差で表し、コントロール値との有意性の基準は5%以下とした。

を探ることが必要である。

スポーツ選手では、乳酸性作業閾値(Lactate Threshold; LT)が運動強度の目安として用いられる。LT以下の運動では脂肪が燃焼し、LTを超えると糖質の分解が亢進した結果、乳酸値が上昇する¹²⁾。乳酸値上昇を抑制しながら運動を続けることは、糖質の節約と脂肪の燃焼亢進につながると考えられる。それゆえ、乳酸産生を抑制し有酸素性エネルギー代謝系への移行を速やかに進行させることのできる食品や食品成分を見出すことは有用である。血中乳酸値低減効果のある食品として梅干し¹³⁾、温州みかん¹⁴⁾、トマト¹⁵⁾などが報告されており、含有されるクエン酸などの有機酸やカロテノイドの抗酸化性による抗疲労効果が見出されている。

今回はラットに2種類の運動を負荷し、運動直前にクエン酸および酢酸を投与することによる乳酸値上昇抑制効果について検討を行った。運動の種類は、水泳とトレッドミル運動とした。ラットを用いた持久トレーニングにおいて血液乳酸濃度が4mmol/L程度の運動が適した運動強度であるという報告¹⁶⁾より、今回の水泳運動では最大血中

濃度が3.01mmol/Lとなったため、やや低強度の持久的運動と考えられる。一方、トレッドミル運動では最大値が5.88mmol/L、訓練した場合は3.40mmol/Lとなり、有意な差ではないものの訓練することにより運動負荷の程度が低い傾向にあったと考えられた。ヒトにおいても訓練により乳酸産生を抑制できることが知られており¹⁷⁾同様の結果となった。

クエン酸摂取はヒトにおいて血中乳酸の除去を促進し¹⁰⁾、マウスに対する単独摂取では遺伝子レベルで糖新生亢進およびグリコーゲン合成促進作用を示したことが報告されている¹⁸⁾。本実験ではクエン酸投与後、水泳およびトレッドミル運動後血中乳酸値の上昇を有意に抑制し、トレッドミル訓練群では低下傾向が観察された。クエン酸はアセチル CoA カルボキシラーゼを活性化することにより脂肪酸合成に寄与し、さらにホスホフルクトキナーゼ活性をフィードバック阻害することが知られている¹⁹⁾。すなわち、乳酸の分解を亢進しグルコースの分解を抑制することにより血中乳酸濃度を低下させたことが推察される。今回の運動条件では、いずれの運動の場合も乳酸値上昇抑制に運動前のクエン酸の補給が有効であると考えられ、特に訓練していない場合に負荷の強弱によらず有効である可能性が示唆された。つまり、毎日継続して運動を行わなくても運動前のクエン酸摂取により、きつい運動にならずに運動を持続できるものと考えられる。

酢酸は古来より疲労回復効果をはじめとして様々な効能のあることが言い伝えられてきた。科学的には、糖尿病リスクの低減、抗高血圧作用、カルシウム吸収促進作用などの結果が報告されている²⁰⁾。中尾ら¹¹⁾は、ヒトにおいて運動後グルコースおよび0.5%クエン酸あるいは0.5%酢酸含有溶液250mLを2回摂取することにより、血清乳酸のピーク値が低下傾向を示したことを報告している。また、糖代謝との関連では、絶食ラットに酢酸を投与することにより肝臓グリコーゲンの分解を亢進し²¹⁾、解糖を阻害し糖新生を活性化することにより肝臓や骨格筋グリコーゲンの充足を高めた²²⁾ことが報告されている。本実験では、運動強度の高いトレッドミル運動において運動前の酢酸投与により乳酸値の有意な低下が観察され、トレッドミル訓練群では低下傾向にあった。しかし、水泳運動ではコントロール群との差はみられなかった。酢酸はアセチル CoA となって代謝されるが、蓄積するとピルビン酸カルボキシラーゼの活性化因子およびピルビン酸デヒドロゲナーゼの阻害剤として作用することによりオキサロ酢酸供給の調節を行っており²³⁾、間接的に乳酸分解に寄与していると考えられる。そのためクエン酸と比較すると乳酸に対する直接的な作用は弱かったものと推察される。今回の運動条件では、習慣化していない場合の強度が高い運動時に、運動前の酢酸摂取がその後の運動持続に有効である可能性が示唆された。

また、日常生活の中で酢酸を摂取する場合、より摂取しやすい食酢として黒酢とリンゴ酢について1回に摂取できる容量を用いて同じ運動条件で検討を試みた。黒酢には抗酸化作用があり²⁴⁾²⁵⁾、トレーニングにより低下したNK細胞活性低下抑制効果が報告されている²⁶⁾ことより、運動時における黒酢摂取は酸化ストレス軽減や免疫賦活作用において有効であると考えられる。内藤ら²⁷⁾は、運動習慣のある人において運動直後にグルコースと中国の黒酢である鎮江香醋を併用摂取することにより運動60分後に血中乳酸値が有意に低下し、アンモニアなどの疲労物質除去を促進したことを報告している。また、リンゴ酢についてもポリフェノールによる抗酸化作用が期待できることが報告されている²⁸⁾ため、運動による酸化ストレスに対して有効であることが考えられる。鉄口ら²⁹⁾はトレーニングを行っている人において運動後にリンゴ酢を4%含む10%りんご果汁、食物繊維、ビタミンC、オリゴ糖を含有した市販飲料摂取により、スポーツドリンクと比較して血中乳酸値の低下傾向を認めている。本研究では運動前に市販の国産黒酢あるいはリンゴ酢を単回投与し乳酸値に及ぼす影響について検討を行ったが、いずれの運動負荷時においても血中乳酸値上昇抑制作用は観察されなかった。本実験におけるクエン酸、酢酸の投与量は0.4g/kg体重であったのに対して、酸度で換算した場合、黒酢は0.14g/kg体重、リンゴ酢は0.2g/kg体重であったため効果がみられなかった可能性が考えられる。クエン酸摂取の場合においても0.5g/kg程度の摂取が必要であり、一般のクエン酸飲料中に含まれる2~3gの量では運動後の乳酸を中心としたエネルギー代謝には影響しないとする報告³⁰⁾もあり、1回の投与では効果がみられなかったものと考えられる。しかし、内藤ら²⁷⁾の報告では酢酸として1%濃度の鎮江香醋を平均体重60kgの人に500mL、つまり酢酸として0.083g/kgの摂取、鉄口ら²⁹⁾はリンゴ酢を5mL含有する飲料を平均体重55.9kgの人に125mL、酸として0.0045g/kgの摂取で血中乳酸値の低下傾向を認めている。いずれも今回の投与量より低い濃度となるため、乳酸値の低下効果は酸成分のみによるものではなく、糖質やその他の成分、運動強度、摂取時期、運動習慣の有無あるいは動物種の違いなどによるものであったかもしれない。

本実験の結果、特に運動強度が高い場合に運動直前のクエン酸あるいは酢酸の摂取が血中乳酸値上昇抑制に有効であることが確認されたことより、運動習慣のない人においてこれらの酸の補給後の運動が、乳酸の酸化亢進とその後の運動継続に有効である可能性が示された。しかし、今回使用した市販の食酢である黒酢とリンゴ酢については運動前の単回投与では効果がみられず、今後さらに継続的に摂取した場合の影響について検討が必要と思われる。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、実験にご協力いただきました平成20年度栄養学科栄養学専攻卒業の高倉万葉さん、平成21年度栄養学専攻卒業の駒野聡美さん、鈴木友里恵さんに感謝致します。

参考文献

- 1) 八田秀雄：*Food Style 21* **15**, 27 (2011)
- 2) 井上和生：日本栄養・食糧学会誌, **55**, 111 (2002)
- 3) 征矢英昭：ストレス科学, **13**, 103 (1998)
- 4) Contarteze RV, Manchado F de B, Gobatto CA, De Mello MA: *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* **151**, 415 (2008)
- 5) 杉浦克己：*Food Style 21* **15**, 31 (2011)
- 6) 吉川珠美：砂糖類情報, No.191, 1 (2012)
- 7) 中村愛理子, 西村明仁：*Food Style 21* **17**, 61 (2013)
- 8) トレーニング科学研究会：競技力向上のスポーツ栄養学, 朝倉書店 (東京), 2001, p.13
- 9) 三宅義明：果汁協会報, No.495, 31 (1999)
- 10) 三宅義明, 山本兼史, 長崎大, 中井直也, 村上太郎, 下村吉治：日本栄養・食糧学会誌, **54**, 29 (2001)
- 11) 中尾千登世, 押田芳治, 佐藤祐造：デサントスポーツ科学, **19**, 59 (1998)
- 12) 八田秀雄：乳酸をどう活かすか, 杏林書院 (東京), 2008, p.54
- 13) 筒井孝子, 堀澄香：東京女子体育大学・東京女子体育短期大学紀要, No.42, 15 (2007)
- 14) 向井克之, 松川寛二：*Food Style 21* **11**, 27 (2007)
- 15) 向井恵：*Food Style 21* **17**, 79 (2013)
- 16) Zhang N, Terao T, Nakano S: *Jpn J Phys Fitness Sports Med* **44**, 127 (1995)
- 17) 八田秀雄：乳酸をどう活かすか, 杏林書院 (東京), 2008, p.56
- 18) Hara Y, Watanabe N: *Food and Nutrition Sciences* **4**, 1114 (2013)
- 19) 上代淑人監訳：ハーパー・生化学, 丸善株式会社 (東京), 2007, p.188, 220
- 20) 多山賢二：日本醸造協会誌, **97**, 693 (2002)
- 21) Takeuchi H, Ohishi Y, Ozaki Y, Yoshikawa M, Yamazaki T: *Boosci Biotechnol Biochem* **57**, 338 (1993)
- 22) Fushimi T, Tayama K, Fukaya M, Tsukamoto Y, Kitakoshi K, Nakai N, Sato Y: *J Nutr* **131**, 1973 (2001)
- 23) 上代淑人監訳：ハーパー・生化学, 丸善株式会社 (東京), 2007, p.163
- 24) Nishida S, Yamamoto M, Ishihara N, Mori H, Nakamura Y, Torikai K, Ohigashi H: *Biosci Biotechnol Biochem* **64**, 1909 (2000)
- 25) Shimoji Y, Tamura Y, Nanda K, Nishidai S, Nishikawa Y, Ishihara N, Uenakai K, Nakamura Y, Ohigashi H: *J Agric Food Chem* **50**, 6501 (2002)
- 26) 長島未央子, 齋藤和人, 萩裕美子：栄養学雑誌, **67**, 107 (2009)
- 27) 内藤祐子：国士館大学体育研究所報, **22**, 31 (2004)
- 28) 高橋匡, 市田淳治, 加藤陽治：日本食品科学工学会誌, **58**, 37 (2011)
- 29) 鉄口宗弘, 東庸介, 三村寛一：大阪教育大学紀要 第4部門 教育科学, **60**, 59 (2012)
- 30) 八田秀雄：*New Food Ind* **46**, 1 (2004)

Abstract

In this study, to develop an effective time-bound daily exercise program, the lowering of blood lactate concentration in rats was examined by administration of various acid samples before different exercise intensities. The acid samples used in this study were citric acid and acetic acid. Furthermore, we examined influence on blood lactate concentration in similar exercise condition using black vinegar (*kurozu*) and cider vinegar. The exercises performed were swimming and treadmill workouts. The treadmill exercise group was compared with the daily training group. The findings showed that citric acid administration before exercise significantly inhibited the elevation in blood lactate concentration in untrained rats, independent of their subsequent exercise intensity. Acetic acid administration to untrained rats significantly reduced blood lactate concentrations in high-intensity exercise. Further, even without continuous daily exercise, the intake of citric acid or acetic acid before exercise was suggested to be effective for later continuation of exercise because the intake reduced the lactic acid levels. Administration of *kurozu* or cider vinegar had no effect on blood lactate concentration.