

運動による呼気中アセトン濃度と呼吸商の変動 —脂質代謝促進サプリメントの摂取による影響—

1) 名古屋大学情報文化学部複雑システム系,
2) 名古屋大学大学院情報学研究科複雑系科学専攻

浜島裕亮¹⁾, 永峰康一郎²⁾

【緒言】

アセトンは脂質代謝の最終産物の一つであり、体内で再代謝されることなく呼気や尿へ排出される¹⁾。アセトンの血液中の濃度と呼気中の濃度はほぼ平衡関係にあり、両者の濃度比は血液中:呼気中=330:1である²⁾。したがって血液中の濃度変化は呼気中にも比例して現れると考えられる。呼気は非侵襲で採取が可能なことから、呼気に含まれるアセトンは脂質代謝の簡便な指標として注目されつつある。これまでに著者らは、異なる運動種目による呼気中アセトンへの影響³⁾や、運動による呼気中アセトンと血液成分の変動比較⁴⁾について報告してきた。一方、近年のダイエットブームに伴い、脂質代謝促進を謳うサプリメントが多く市販されている。もしサプリメントを摂取して運動を実施し、脂質代謝の亢進によって呼気中アセトン濃度の更なる増加が認められれば、サプリメントの効果を実感することができ、運動や健康増進活動のモチベーションアップにつながると考えられる。そこで本研究では脂質代謝促進サプリメント(以下、サプリメント)を摂取して運動を行った時の呼気中アセトン濃度の変化について検討を行うこととした。

【対象】

被験者として健常男性5名を対象とした。表1に被験者の身体特性(平均±標準偏差)を示す。

本研究はあらかじめ名古屋大学総合保健体

育科学センター倫理委員会の承認を得た。また、被験者には本研究の主旨、実験方法について事前に説明を行い、文書による同意を得た上で実施した。

表1 対象者の身体特性(健常男性5例)

年齢(歳)	33.2±9.8
身長(cm)	170.5±5.1
体重(kg)	63.0±7.6
BMI(kg/m ²)	22.1±1.6

【方法】

本研究では、運動前にサプリメントを摂取する場合としない場合の2通りの条件下で運動負荷実験を実施し、呼気中アセトン濃度にどのような変化が見られるのか比較検討した。また、脂質代謝についての比較参照データとして呼吸商を測定した。

呼気中アセトン濃度を増減させる要因はいくつか知られている。代表的な増加要因として、糖を十分に摂取しない場合⁵⁾や、糖尿病患者でインスリン分泌が低下した場合⁶⁾が挙げられる。逆に絶食等で呼気中アセトン濃度が増加した状態で糖を摂取した場合は、呼気中アセトン濃度が減少する⁷⁾。本研究では、健常者を被験者としてインスリン分泌による影響を排除した。また実験前日の夜から実験終了まで食事制限を実施し、サプリメント摂取時と非摂取時との

間でサプリメント以外の糖の摂取条件を統一することで、サプリメント摂取による呼気中アセトン濃度への影響を評価できるようにした。

1) サプリメント

本研究では、脂質代謝促進を謳うサプリメントとして市販されているものの中から一種類(4ウェイメガバーンスティックドーム 東京)を一例として選んで用いたこのサプリメントの栄養成分について表2に示す、このサプリメントの有効成分はシネフリン、オルニチン、カル

ニチン、コエンザイムQ10であり、各成分は以下のように機能する。シネフリンは体脂肪が分解される時に働くホルモン感受性リパーゼという酵素を活性化し、脂肪細胞からの脂肪酸放出を促す。オルニチンは体内での一酸化窒素形成の材料になり、それが血管を拡張し血流を促進する。脂肪酸はミトコンドリアで分解されるが、その際にアシルカルニチンに変換され、さらにアシルCoA、アセチルCoAに変換されてエネルギーを産生する。これらの変換にはCPT (Carnitine Palmitoyl Transferase) という酵素が必要であり、カルニチンはCPT形成の材料となる。またエネルギー産生の際には複合体間を電子が受け渡されていくが、この受け渡しの際にコエンザイムQ10が消費される。

表2 サプリメントの栄養成分
(一投与5gあたり)

エネルギー	20 kcal
タンパク質	1.9 g
脂質	0.1 g
炭水化物	2.8 g
シネフリン	10 mg
オルニチン	1000 mg
カルニチン	1000 mg
コエンザイムQ10	60 mg

サプリメント摂取とサプリメント非摂取の運動負荷実験は、それぞれ別日に実施した。すべての被験者でサプリメント非摂取の実験を先に、サプリメント摂取の実験を後に実施し、2つの実験は6日以上の間隔をあけた。図1に運動負荷実験のプロトコルを示す。実験は9:30に開始し10:00まで安静状態を維持させ、10:00から

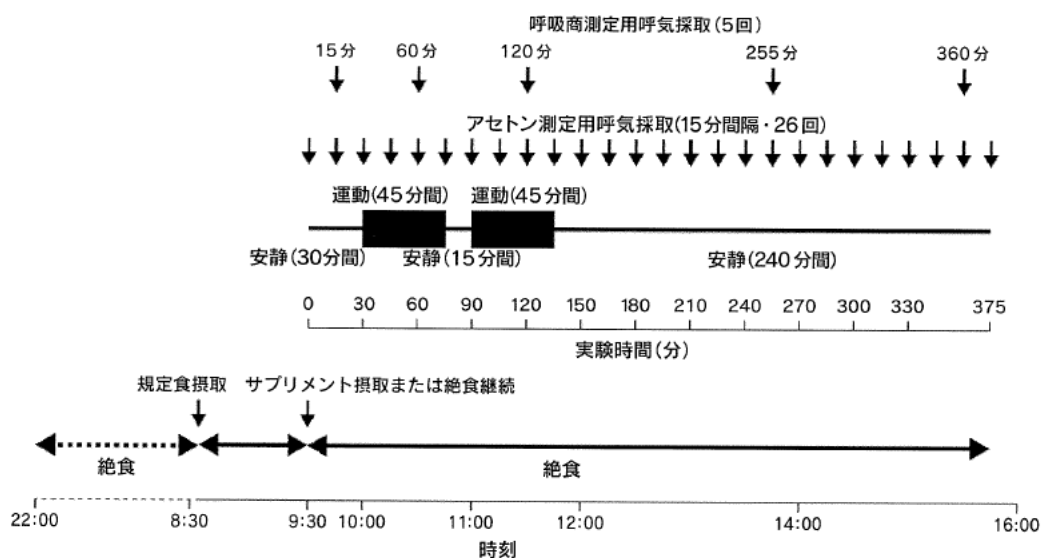


図1 運動負荷実験のプロトコル

運動を開始した。サプリメント摂取の実験の場合は、実験開始時間の9:30にサプリメント5 gを100 mlの水に溶かして摂取させた。サプリメント非摂取の実験の場合は、同時刻に同量の水のみを摂取させた。運動終了後、4時間の安静状態を維持し15:45に実験終了とした。

また、サプリメント以外の食事条件として被験者には実験前日22:00より絶食とし、実験当日8:30に規定食(カロリーメイト 大塚製薬 東京)400 kcalを摂取させた。規定食の栄養成分について表3に示す。その後実験終了までサプリメント摂取を除き絶食(水のみ可)とした。

**表3 規定食の栄養成分
(一投与80gあたり)**

エネルギー	400 kcal
タンパク質	8.4 g
脂質	22.2 g
炭水化物	42.7g

2) 運動負荷実験

本研究では、運動負荷として自転車エルゴメーター(エアロバイク75XL コンビ 神奈川)を用いた。運動強度と運動時間については、運動時間が90分以上になると40%以上の運動強度で脂質代謝の亢進が認められたという報告⁸⁾がある。そこで本実験では運動強度を40%、運動時間を45分2セット、セット間15分休憩の計90分とした。

運動強度の決定には心拍数を用い、年齢と運動強度から目標心拍数を求めるKarvonen法⁹⁾を用いて、運動強度と各被験者の年齢に対応した目標心拍数を算出した。

目標心拍数 = (220 - 年齢 - 安静時心拍数) × 運動強度 + 安静時心拍数

算出した目標心拍数に対応する自転車エルゴメーターでの運動負荷(W)を求めるために被験者毎に次の事前実験を行った。始めに自転車エルゴメーターの初期負荷を85 Wに設定し、

続いて心拍数を確認しながら5分毎に負荷を5 Wずつ上げていった。そして心拍数が運動強度45%に対応する心拍数を超えた時点で運動を終了した。心拍数は運動強度に比例することが知られている¹⁰⁾ことから、事前実験で得られた心拍数と運動負荷の分布から一次回帰直線を求め、そこから目標心拍数に対応した運動負荷を決定した。

3) 呼気中アセトン濃度と呼吸商の測定

本研究では呼気中アセトン濃度の測定のために、マウスピース、ディスカードバッグ、コレクションバッグ(500 mL)によって構成された呼気採取セット(Ver.040906呼気生化学栄養代謝研究所 奈良)を用いて、被験者の終末呼気を実験時間中15分間隔で26回採取した。アセトンの沸点は56.5℃で水溶性のため、体温より低い室温で呼気を長時間コレクションバッグに保存しておく、アセトンが呼気中の水蒸気とともに凝縮し、バッグ内部に付着する恐れがある。そこで測定直前にコレクションバッグを、体温及びアセトンの沸点よりも高い65℃前後で5分以上湯浴させた。そして定量ガスタイトシリンジ(チャーニーアダプター付1750RNハミルトン 米国)を用いて試料500 μLを計量し、FID(Flame Ionization Detector)ガスクロマトグラフ(GC4000ジールサイエンス 東京)に注入しアセトン濃度測定を行った。

体内で消費したエネルギー源の割合を示す指標として呼吸商がある。呼吸商とは体内のエネルギー源が燃焼する際に生成した二酸化炭素量と消費された酸素量の比のことで、エネルギー源が糖質の場合は約1.0、タンパク質の場合は約0.8、脂質の場合は約0.7となる。ただしタンパク質は運動のエネルギー源としてほとんど用いられないため、呼吸商は主に体内で燃焼した糖質と脂質の割合を示す¹⁰⁾。

呼吸商は以下の式で求められる。酸素と二酸化炭素以外に窒素が式中に含まれているのは

一般的に呼気には水蒸気などが含まれており、それらによる影響を補正するためである。

$$\text{呼吸商} = \frac{(\text{FECO}_2 - (\text{FEN}_2 \times \text{FICO}_2) / \text{FIN}_2)}{((\text{FEN}_2 \times \text{FIO}_2) / \text{FIN}_2 - \text{FEO}_2)}$$

ここで、

FEO₂=呼気中酸素濃度, FIO₂=吸気中窒素濃度,
FECO₂=呼気中二酸化炭素濃度, FICO₂=吸気中二酸化炭素濃度,

FEN₂=呼気中窒素濃度, FIN₂=吸気中窒素濃度

呼吸商の測定のために、実験時間中5回(運動開始前(15分), 前半運動中(60分), 後半運動中(120分), 運動終了後(255分・360分)), フェイスマスクとダグラスバッグ(100L アルコシステム 千葉)を用いてそれぞれ1分間呼気を継続採取した。呼気に含まれる二酸化炭素についてはアセトンと同じFIDガスクロマトグラフ、酸素と窒素についてはTCD(Thermal Conductivity Detector)ガスクロマトグラフ(model-802 大倉理研 東京)を用いて分析を行い、上記の式から呼吸商を算出した。

4)統計処理

呼気中アセトン濃度は安静時においても個人差が大きいことが知られている¹¹⁾。そのため本研究のように他の要因による濃度の時間変化について比較考察を行う場合、絶対濃度よりも相対濃度に着目した方がより適切である。そこで本研究では先行研究³⁾⁴⁾と同様に、実験開始時の安静状態における呼気中アセトン濃度を基準として、下記の式で示される呼気中アセトン濃度増加率を算出し呼気中アセトン濃度変化の比較に用いた。

$$\text{呼気中アセトン濃度増加率} = \frac{(\text{実験中の呼気中アセトン濃度} - \text{実験開始時の呼気中アセトン濃度})}{(\text{実験開始時の呼気中アセトン濃度})}$$

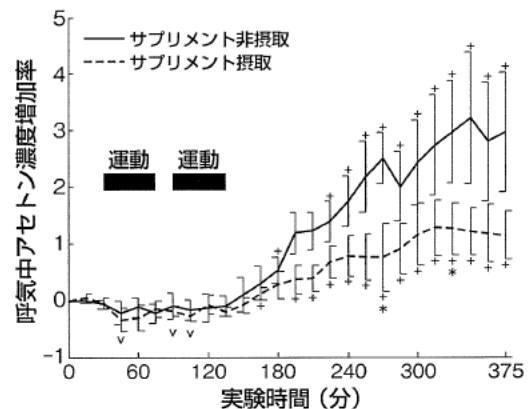
本研究では被験者のデータ数がそれほど多くない。そこで先行研究³⁾⁴⁾と同様に、外れ値による影響を防ぐために中央値と四分位偏差を用いて結果を示す。有意差の検討については、

対応のある2標本の差の検定を行うWilcoxonの符号付順位和検定を用い、 $p < 0.05$ の場合に有意差が認められるとした。

【結果】

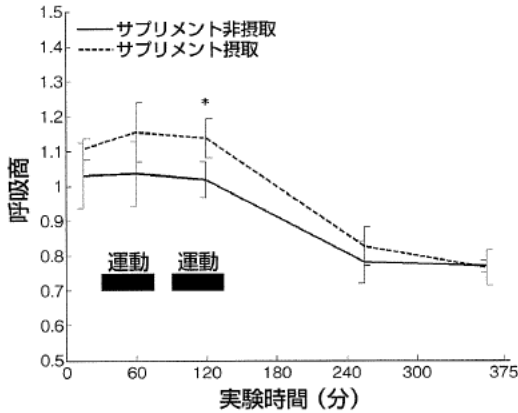
サプリメント非摂取の場合とサプリメント摂取の場合の呼気中アセトン濃度増加率の変動を図2に示す。まずいずれの条件においても、運動終了までは呼気中アセトン濃度増加率は増加しなかった。特にサプリメント摂取の場合には実験開始時に比較して有意に減少した時間もあった(45分・90分・105分)。そして運動終了後は、いずれの条件においても呼気中アセトン濃度増加率は実験開始時に比較して有意に増加した。しかしながら、サプリメント摂取の場合の方が増加は小さく、両者を呼気試料採取時間毎に比較すると、サプリメント摂取の場合の方がサプリメント非摂取の場合に比較して有意に低い時間もあった(270分・330分)。

サプリメント非摂取の場合とサプリメント摂取の場合の呼吸商の変動を図3に示す。いずれの条件においても呼吸商は運動中までは1前後の値を示し、運動終了後は0.7近くまで減少した。両者の呼吸採取時間毎の比較では後半運



- (+上側: サプリメント非摂取の場合、実験開始時と比べて有意に高値($p < 0.05$))
- (+下側: サプリメント摂取の場合、実験開始時と比べて有意に高値($p < 0.05$))
- (v下側: サプリメント摂取の場合、実験開始時と比べて有意に低値($p < 0.05$))
- (*下側: サプリメント非摂取と比べてサプリメント摂取が有意に低値($p < 0.05$))

図2 呼気中アセトン濃度増加率の変動(n = 5)



(*: サプリメント非摂取と比べてサプリメント摂取が有意に高値 ($p < 0.05$))

図3 呼吸商の変動 (n = 5)

動時(120分)にサプリメント摂取の場合の方がサプリメント非摂取の場合に比較して有意に高かった他は有意な差は認められなかった。

【考察】

呼気中アセトン濃度増加率は運動中には増加せず、運動後に増加する傾向が見られた(図2)。呼気中アセトンが運動中ではなく、運動後に遅れて増加することは先行研究でも報告されており¹²⁾、その理由として、最大下の運動でははじめに活動筋での遊離脂肪酸の取り込みが増加し、これに対して脂肪組織での脂肪分解がゆっくり応答するため、血中遊離脂肪酸濃度が一時的に減少することが挙げられる¹³⁾。やがて脂肪分解の増加に伴い、脂肪組織からの遊離脂肪酸の放出が活動筋での遊離脂肪酸の取り込みを越えるようになると、それに比例して呼気中アセトン濃度も増加するようになる。

運動後の呼気中アセトン濃度の増加におけるサプリメント摂取の影響については、事前の予想に反し、サプリメント摂取によって呼気中アセトン濃度の増加が促進されるどころか、逆に非摂取の場合に比較して増加が抑制されることとなった。

サプリメント摂取により呼気中アセトン濃度の増加が抑制された要因として、サプリメントに糖原性アミノ酸由来の物質が含まれていることが考えられる。本実験で使用したサプリメントは、シネフリン、オルニチン、L-カルニチン、コエンザイムQ10を主成分としている。そのうち、オルニチンとL-カルニチンは糖原性アミノ酸由来の物質である。糖原性アミノ酸は、糖新生に用いられるアミノ酸でありTCA (TriCarboxylic Acid) 回路の中間体であるオキサロ酢酸から解糖系を經由してグルコースに転換されうる¹³⁾。絶食により呼気中アセトン濃度が増加した状態で食物摂取した場合、体内でのグルコース供給増加により呼気中アセトン濃度が減少することが知られており⁷⁾、本研究についても、サプリメント摂取により体内で生成されたグルコースが呼気中アセトン濃度減少を招いた可能性が考えられる。また他の可能性として、サプリメントに含まれる成分により、呼気中ではなく尿中に排泄されたアセトンが増加したことが考えられる。実験で摂取したサプリメントは5gと少量のため後者の可能性も高いが、本研究では尿の分析を行わなかったため、いずれの影響が大きいかわからない。

サプリメント摂取の場合とサプリメント非摂取の場合の呼吸商の変動については、両者ともに運動中は呼吸商の値が1付近であったが、運動後に0.7付近まで減少した。これは、運動によりエネルギー供給に占める糖質の割合が相対的に増加し、その後安静により脂質の割合が増加したことを示していると考えられる。一方で、呼吸商は運動前の安静時の状態でも1付近の値を示した。この原因としては、被験者は実験直前に実験室へ入室したため、そこへの移動時の運動の影響の可能性が考えられる。また運動負荷実験での運動強度は乳酸閾値以下の40%と設定したにもかかわらず、サプリメント摂取の場合に運動前と運動中の呼吸商が1を超

えており、これはフェイスマスクとダグラスバッグを用いた呼気の採取方法に問題があった可能性も排除できず、今後の課題である。

【結論】

本研究では運動前にサプリメントを摂取した場合と摂取しない場合の2通りで運動負荷実験を実施し、呼気中アセトン濃度と呼吸商のデータを比較検討した。

呼気中アセトン濃度については、サプリメント摂取の場合のほうがサプリメント非摂取の場合に比べて濃度増加率が有意に低い場合があった。この原因については、サプリメントに含まれる糖原性アミノ酸からグルコースが生成され、それがケトン体生成を抑制したか、あるいはサプリメントに含まれる成分がアセトンの排泄経路に影響を与え、呼気よりも尿へ排泄する量を増加させた可能性が考えられた。

呼吸商については、サプリメント摂取の場合とサプリメント非摂取の場合の2群間で1回を除き有意な差は認められなかった。これらの結果については、運動およびその後の安静においてエネルギー供給に占める糖質と脂質の割合の変化を反映したものとなった。

今後呼気中アセトン濃度を脂質代謝の指標として実用化するためには、サプリメントを含む食事成分の摂取による影響を十分検討しておく必要があると考えられる。

【参考文献】

- 1) 小橋恭一:呼気生化学-測定とその意義-。メディカルレビュー社、大阪、1998。
- 2) Crofford OB, Mallard RE, Winton RE, et al.: Acetone in breath and blood. *Trans Am Clin Climatol Assoc*, 88: 128-139, 1977.
- 3) 永峰康一郎, 原亜珠沙, 野津真知子, 他: 定常負荷運動時の運動種目による呼気中アセトン濃度変動の比較. *安定同位体と生体ガス*, 5: 44-51, 2013.
- 4) 峯田大暉, 永峰康一郎, 石田浩司, 他: 定常負荷運動時の呼気中アセトンと血液成分の変動比較. *安定同位体と生体ガス*, 6: 24-31, 2014.
- 5) Španěl P, Dryahina K, Rejšková A, et al.: Breath acetone concentration; biological variability and the influence of diet. *Physiol Meas*, 32: N23-N31, 2011.
- 6) Mahendran Y, Vangipurapu J, Cederberg H, et al.: Association of ketone body levels with hyperglycemia and type 2 diabetes in 9,398 Finnish men. *Diabetes*, 62: 3618-3626, 2013.
- 7) Smith D, Španěl P, Davies S, et al.: Trace gases in breath of healthy volunteers when fasting and after a protein-calorie meal: a preliminary study. *J Appl Physiol*, 87: 1584-1588, 1999.
- 8) 豊岡志朗, 荒松馨, 松生香里: 運動強度と運動時間から見た脂質代謝特性. *大阪総合保育大学紀要*, 35: 39-50, 2003.
- 9) Karvonen MJ, Kentala E and Mustala O: The effects of training on heart rate; a longitudinal study. *Ann Med Exp Biol Fenn*, 35: 307-315, 1957
- 10) 中岡浩一, 岡本孝信, 須永美歌子: 1から学ぶスポーツ生理学(第2版). 有限会社ナップ, 東京, 2016.
- 11) Diskin AM, Španěl P and Smith D: Time variation of ammonia, acetone, isoprene and ethanol in breath: a quantitative SIFT-MS study over 30 days. *Physiol Meas*, 24: 107-119, 2003.
- 12) Güntner AT, Sievi NA, Theodore SJ, et al.: Noninvasive body fat burn monitoring from exhaled acetone with Si-doped WO₃-sensing nanoparticles. *Anal Chem*, 89: 10578-10584, 2017.

- 13) Houston ME著, 山田茂訳: 運動生化学ハンドブック. 有限会社ナップ, 東京, 2004.

別刷請求先
〒464-8601 名古屋市千種区不老町
Tel: 052-789-4255
E-mail: nagamine@nagoya-u.jp
名古屋大学大学院 情報学研究科
永峰康一郎

Testing the effect of a fat burner supplement on breath acetone with exercise

Yusuke Hamajima¹⁾, Koichiro Nagamine²⁾

School of Informatics and Sciences, Nagoya University¹⁾,
Graduate School of Informatics, Nagoya University²⁾

Many fat burner supplements to promote lipolysis have recently appeared on the market. As one of the final products of lipolysis, acetone contained in exhaled air is expected to be an easy noninvasive indicator of lipolysis levels. We carried out experiments to demonstrate the effect of a fat burner supplement taken before exercise on breath acetone during and after the exercise.

All subjects were healthy men (n=5) aged from 22 to 43 years. A bicycle ergometer was used for the exercise. For each subject, exercise intensity, determined by heart rate, was 40% and the total exercise duration was 90 minutes. To measure acetone levels breath air was sampled every 15 minutes using a collection bag, and to determine the respiratory quotient breath was sampled for one minute five times using a Douglas bag. The experiment was carried out two times for each subject on separate days. Subjects took the fat burner supplement 30 minutes before the exercise in one experiment and took nothing in the other experiment allowing comparative assessment of the effect of ingestion of the supplement.

Both with and without the supplement, breath acetone did not increase during the exercise then significantly increased after completion. Contrary to our expectation, the increase after exercise was lower in the case of taking the fat burner supplement than in the case of taking nothing. Glucogenic amino acids such as ornithine and L-carnitine in the supplement may have suppressed the production of ketone bodies including acetone like sugar. The respiratory quotient increased to about 1 during exercise then decreased to about 0.7 after exercise in both cases. This may reflect the balance between sugar and fat energy sources.