

英国と日本国内のビートルートジュースに含まれる 硝酸塩と抗酸化能（ORAC値）の比較

Comparison of nitrate content and antioxidant capacity
in beetroot juice made in Japan and the UK

河野有華¹

Yuka KONO

藺田邦博¹

Kunihiro SONODA

清水彩子¹

Ayako SHIMIZU

大竹一男²

Kazuo OHTAKE

飯野汐里²

Shiori IINO

柴祥子²

Sachiko SHIBA

小林順³

Jun KOBAYASHI

【はじめに】

ビート (*Beta vulgaris rubra*) は、ビートルートやレッドビートと呼ばれる根菜の一種であり、ロシアやウクライナの料理である「ボルシチ」に欠かせない野菜である。近年、ビート（以下：ビートルート）の健康増進および疾病予防機能性食品としての期待が高まっている^{1, 2)}。ビートルートは、無機硝酸塩、アスコルビン酸、カリウム、鉄、カロテノイド、フラボノイド^{1, 2, 3)}の他、特有の赤紫色をした色素成分であるベタレインを含んでいる²⁾。特にビートルートに含まれる硝酸塩の心血管リスク低減効果やアスリートの運動パフォーマンスの向上効果、ベタレインによる抗酸化作用や抗炎症作用に注目が集まっている^{4, 5)}。世界のビートルートジュース市場は毎年5%

成長していることが報告されており、今後数年間続くと予想されている⁶⁾。

生体内での一酸化窒素 (Nitric Oxide : NO) は、血管拡張作用、抗酸化作用、抗炎症作用、血小板凝集抑制作用など様々な生理作用を示すことが知られている^{7, 8)}。通常、生体内のNOは血管内皮細胞でL-アルギニンを基質としてNO合成酵素 (NO synthase : NOS) により産生されている。生体内のNO産生量は、20歳までの産生量を100%とすると40~50歳で約50%に減少し、さらに70~80歳で75%減少することが報告されている⁹⁾。また、各種生活習慣病 (高血圧、糖尿病、脂質代謝異常症など) により血管内皮が損傷されるとNOの産生量は著しく減少し、致死性疾患 (心筋梗塞、脳卒中など) の罹患リスクが高まる^{7, 8)}。したがって、NOの生物学的利用能を上げることは重要であるが、NOはガス状物質であり消失半減期が数秒と非常に短いため恒常的

¹金城学院大学 生活環境学部 食環境栄養学科

²城西大学 薬学部 薬学科

³城西大学 薬学部 医療栄養学科

に供給することは難しい。薬剤では、ニトログリセリンや硝酸イソソルビドなど直接NOを供給するものが存在するが、NOを直接供給する食品成分はこれまで見つかっていなかった。そんな中、2000年代に入り野菜や果物に含まれる硝酸塩からNOが産生され、生体内で生理作用を示すことが明らかになり始めた。食事（主に野菜・果物）から摂取した硝酸塩は一度、消化管から体内へ吸収された後、大部分は腎臓から尿として排泄されるが、残りの最大25%は唾液腺に濃縮され再度口腔内に分泌される¹⁰⁾。口腔内に分泌された硝酸塩は、口腔内細菌叢の中に含まれる硝酸塩還元酵素により亜硝酸塩に変換された後、生体内で酵素・化学的に直接NOを産生することが報告されている¹⁰⁾。そのため、硝酸塩は生体内におけるNO産生が減少した際のバックアップシステムやオンデマンドNOドナーとしての役割が期待されている。硝酸塩を多く含む食材としては、ビートルート^{4, 5, 6)}や緑色葉菜類（チンゲン菜、小松菜、パクチョイなど¹¹⁾がある。人を対象とした研究から硝酸塩を豊富に含む野菜類を摂取することで血圧を低下させることが明らかになっている¹²⁾。また、硝酸塩の有効性を確認するためのヒトを対象とした介入研究においてもビートルートジュースが頻繁に用いられており¹³⁾、英国ではビートルートジュースが販売されている。一方、日本国内においてもビートルートを含むジュースや粉末のビートルートが販売されているが、国内で販売されているビートルート関連製品の硝酸塩含有量や抗酸化能などは調査されていなかった。

そこで本研究では、英国で販売されているビートルートジュースと国内で購入できるビートルートジュースの硝酸塩、亜硝酸塩、抗酸化能（ORAC値）、塩分、糖分（Brix）、カリウム含有量を比較したので報告する。

【方法】

1. サンプル調製

ビートルートジュース3種類は、製品A：英国販売ビートルートジュース（70 mL）、製品B：国内販売ビートルートジュース（200 mL）、製品C：国内販売ビートルートジュース（100 mL）を用いた。なお、（ ）内の数値は製品内容量を示しており、以下の2）～4）の測定項目について100 mLあたり、および製品間で容量が大きく異なるため、1製品当たりの値をそれぞれ算出した。

2. 硝酸塩と亜硝酸塩含有量の測定

各サンプル（50 μ L）を超純水で50倍希釈した後、同量のHPLC用メタノールを加え、10,000 \times gで5分間遠心分離することによって除タンパクと不純物の除去を行った。最終的に100倍希釈した上清を測定試料として用いた。ジュースサンプルの亜硝酸イオンと硝酸イオン濃度は、グリース法をもとにしたHPLCシステム（ENO-20, Eicom, Kyoto, Japan）を用いて行った¹⁴⁾。

3. DPPHラジカル消去活性（ORAC値：Oxygen Radical Absorbance Capacity）の測定

各サンプル（100 μ L）を50%メタノール溶液で10倍希釈した後、10,000 \times gで1分間遠心分離することによって不溶物の除去を行った。DPPH溶液900 μ Lに対して各サンプル溶液100 μ Lを加え混和した後、室温で10分反応させた。分光光度計にて517 nmの吸光度を測定した¹⁵⁾。Torolox（水溶性ビタミンE誘導体）量で検量線を作成し、各サンプルのORAC値を算出した。

4. 物理化学的特性

各サンプルの糖分含有量 (Brix, %) をデジタル屈折計PR-100 (アタゴ株式会社), 塩分含有量 (%) をデジタル塩分計PAL-ES (アタゴ株式会社), カリウムをカリウムメーターLAQUAtwin-K-11 (株式会社堀場アドバンステクノ) を用いて測定した。

5. 統計解析

値は, すべて平均±標準誤差で示した。検定は, one-way ANOVAのTukey testにより行い, $p < 0.05$ を有意差有とした。これらの統計解析はStat Mate V (株式会社アトムス, 東京) を用いた。

【結果】

1) ビートルートジュースに含まれる亜硝酸イオンと硝酸イオン含有量の比較

図1にビートルートジュースの製品100 mL当たり, 又は1製品当たりの亜硝酸イオンと

硝酸イオン含有量を示した。英国で販売されているビートルートジュース (製品A) 100 mL当たりの亜硝酸イオン含有量は製品Cとは同程度であったが, 製品Bに比べ有意に多かった。しかし, 1製品当たりに換算するとすべての製品で同程度になった。一方, 硝酸イオン含有量に関しては, 製品A (469.0 ± 28.4 mg), 製品B (27.3 ± 1.6 mg), 製品C (87.5 ± 2.1 mg) となり, 製品Aに硝酸イオンが多く含まれていた。また, 1製品当たりに換算すると製品A (328.3 ± 19.9 mg), 製品B (54.6 ± 3.2 mg), 製品C (87.5 ± 2.1 mg) となり, 1製品当たりにおいても製品Aに硝酸イオンが最も多く含まれていた。

2) ビートルートジュースの抗酸化能 (ORAC値) の比較

図2にビートルートジュースの製品100 mL当たり, 又は1製品当たりのORAC値を示した。英国で販売されているビートルートジュ-

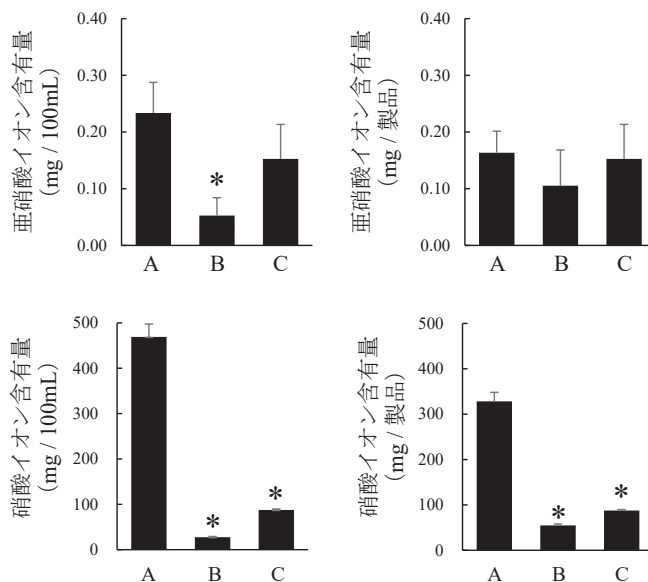


図1) ビートルートジュースに含まれる亜硝酸イオンと硝酸イオン含有量の比較値は, すべて平均±標準誤差で示した (検体数=3)。

* $p < 0.05$ v.s 製品A.

英国と日本国内のビールートジュースに含まれる硝酸塩と抗酸化能（ORAC値）の比較（河野有華ほか）

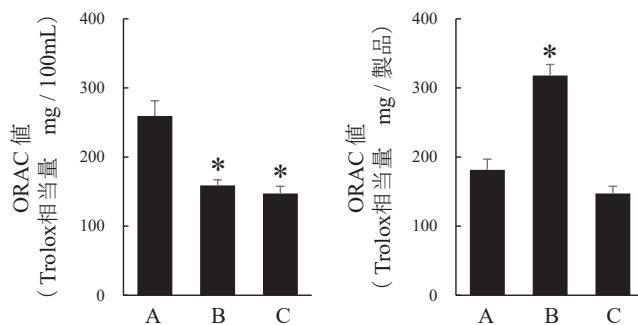


図2) ビートルートジュースの抗酸化能（ORAC値）の比較値は、すべて平均±標準誤差で示した（検体数=3）。
* $p < 0.05$ v.s 製品A.
ORAC : Oxygen Radical Absorbance Capacity

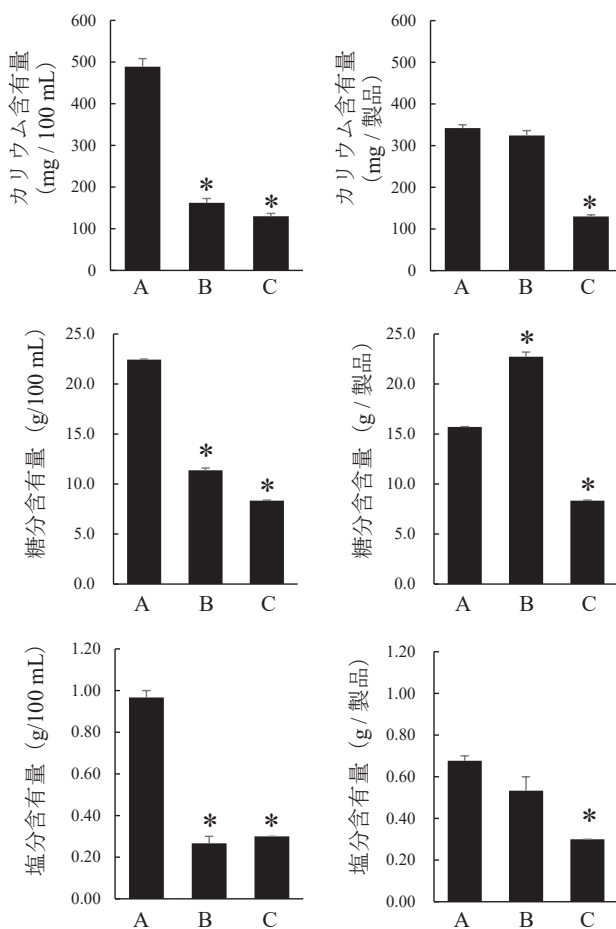


図3) ビートルートジュースのカリウム、糖分含有量（Brix）、塩分含有量の比較値は、すべて平均±標準誤差で示した（検体数=3）。
* $p < 0.05$ v.s 製品A.

ス（製品A）100 mL当たりのORAC値は、国内販売の製品Bと製品Cに比べ有意に値が高かったが、1製品あたりに換算すると製品Cと同程度になり、製品BでORAC値が高かった。

3) ビートルートジュースに含まれるカリウム、糖分含有量（Brix値）、塩分含有量の比較

図3にビートルートジュースの製品100 mL当たり、又は製品当たりのカリウム含有量、糖分含有量、塩分含有量を示した。英国で販売されているビートルートジュース（製品A）100 mL当たりのカリウム含有量は、国内販売の製品Bと製品Cに比べ多かった。1製品あたりに換算すると製品Aは製品Bと同程度の含有量となったが、製品Cより多く含まれていた。製品A 100 mL当たりの糖分含有量は、製品Bと製品Cに比べ多かったが、1製品あたりに換算すると製品Aに比べ製品Bで多く含まれており、製品Cは少ない結果となった。製品A 100 mL当たりの塩分含有量は、製品Bと製品Cに比べ多かった。1製品あたりに換算すると製品Aは、製品Bと同程度の含有量となったが、製品Cより多く含まれていた。

【考察】

ビートルートジュースは、硝酸塩による血圧降下作用や運動パフォーマンス向上などの機能性に注目が集まっており^{4, 5)}、疾患予防効果を明らかにするためのヒトを対象とした研究にも多く用いられている¹³⁾。現在、日本でビートルートジュースを購入する方法は、英国で販売されているものを輸入する方法と国内販売されているものを購入する方法がある。食品に含まれる成分含有量は産地の土壌や加工の方法により大きく異なることが知られていることから、英国のビートルート

ジュースと国内のビートルートジュースでは含まれている成分含有量に違いがあると考えられた。そこで本研究では、英国で販売されているビートルートジュースと国内で手軽に購入できるビートルートジュースの硝酸塩、亜硝酸塩、抗酸化能（ORAC値）、塩分、糖分（Brix値）、カリウム含有量を比較検討したので報告する。

本研究結果から英国で販売されているビートルートジュースの亜硝酸イオン含有量は、製品100 mL当たりでは製品Cに比べ高い値となったが、1製品あたりに換算すると、その差は無くなった（図1）。一方で、ビートルートジュース100 mL中に含まれる硝酸イオン含有量は国内で販売されている製品に比べ英国で販売されている製品で5倍～17倍多く、1製品あたりにおいても4倍～6倍含有量が多かった（図1）。抗酸化能を示すORAC値については、製品100 mL当たりでは英国で販売されているビートルートジュースが国内販売の2製品より高い値であったが、1製品あたりに換算すると製品Cと同程度になり、製品Bにおいては英国で販売されている製品より約2倍のORAC値を示した（図2）。製品100 mL当たりのカリウム、糖分、塩分含有量に関しては英国で販売されているビートルートジュースが国内で販売されている2製品より、いずれも高い値であった（図3）。しかし、1製品あたりに換算すると製品Cは製品Aよりも含有量が少なかったが、製品Bはカリウム含有量、塩分含有量は製品Aと同程度となり、糖分含有量が多い結果となった（図3）。

本調査において1製品当たりの硝酸イオン含有量は、製品A（ 328.3 ± 19.9 mg）、製品B（ 54.6 ± 3.2 mg）、製品C（ 87.5 ± 2.1 mg）であった（図1）。我々が2022年に報告した英国販売のビートルートジュース（本研究と同一製

品）1製品あたりの硝酸イオン含有量は、530 mgと本研究結果と比べ約2倍多かった¹⁶⁾。野菜類の硝酸塩含有量は、同一品種でも大きな幅があることが報告されており、その要因として収穫時期、土壤環境、栽培条件に影響していると考えられている¹¹⁾。今回の結果からも同一のビートルートジュース製品であっても硝酸塩含有量は大きく異なることがわかった。また、ビートルートを用いて3種類の加工方法（ブレンダー、高速ジュースャー、低速ジュースャー）でジュースを作製し、そのジュース中の硝酸塩含有量を測定した研究では含有量に81~565 mgの幅があることが報告されている¹⁷⁾ ことから、どのようにビートルートジュースを加工したかにより含有量に大きな変化が現れると考えられ、本研究の結果にも影響しているかもしれない。

硝酸塩は、これまで硝酸塩から変換される亜硝酸塩が2級アミンと反応することで発がん性のニトロソアミンを生成することから有害物質として認識されており、硝酸塩の1日摂取許容量（Acceptable Daily Intake：ADI）は、3.7 mg/kg/day、亜硝酸塩は0.06 mg/kg/dayと設定されている（体重60 kgの成人の場合のADIは、硝酸塩222 mg/day、亜硝酸塩3.6 mg/day）。本調査を成人60 kgのADI比で比較するとADIを超えたのは英国のビートルートジュース（ADI比：148%）のみで国内のビートルートジュースは2製品ともADIの範囲内（ADI比：製品B 25%、製品C 39%）であった。日本人の1日の硝酸塩摂取量とADI比は、食品添加物一日摂取量総点検調査報告書（厚生省2001）に記載されており、硝酸塩摂取量はいずれの年齢（1~6歳、7~14歳、15~19歳、20~64歳、65歳以上）においてもADIを超えており、ADI比で114.7~219.3%となっている¹⁸⁾。また、Hordらは、高血圧予防のための食事であるDietary Approach Stop

Hypertension（DASH）食のパターンから食事内容を組み合わせると硝酸塩量が約174 mg~1222 mg（成人60 kgにおけるADI比：最大約550%）になることを報告している¹⁹⁾。このように日本人は日常的に多くの硝酸塩を取り入れており、その供給源の96%以上は野菜、果実、海藻類由来であることが報告されている¹⁸⁾。野菜、果物、海藻類は、がんの予防効果がある食材とされていることから硝酸塩摂取による発がん性との矛盾がある。そのため、硝酸塩摂取による発がん性リスクより野菜や果物の摂取による有益性の方が上回ること¹⁹⁾ やFAO/WHO合同食品添加物専門家会議（JECFA）は野菜から摂取する硝酸塩量を一日摂取許容量と直接比較することや野菜中の硝酸塩量を限定することは適切でないとしている²⁰⁾。2021年に報告されたデンマークのコホート調査において、植物由来の硝酸塩を毎日少なくとも60 mg以上の摂取することで虚血性心疾患、心不全、虚血性脳卒中、末梢動脈疾患リスクを低下させる可能性があることが報告されている²¹⁾。今回の実験で測定した英国と国内で販売されているビートルートジュースは、1製品当たり54.6~328 mgの硝酸塩が含まれていたことから疾患予防に有効と考えられている硝酸塩量以上または、近い量を摂取することができる。しかしながら、乳幼児は成人よりも硝酸塩摂取によって重症メトヘモグロビン血症を発症しやすいことから、硝酸塩を含む食品の過剰摂取には注意する必要がある。また、硝酸塩摂取の短期的な有効性や有害性については調査されてきているものの長期的な摂取による有効性（有害性を含む）や適切な摂取量については不明であることから、今後の調査に期待する。

NOは、ラジカル的一种であることから抗酸化作用を示すが、活性酸素種（Reactive oxygen species：ROS）と反応する性質がある

ことからROSの存在下では消去されてしまう。生活習慣病をはじめとする多くの疾患（アテローム性動脈硬化症、糖尿病、脳卒中など）の発症や進展には、ROSの過剰な増加が関与していることが明らかになっている^{17, 22, 23}。そのROSを消去する働きを持っているのが抗酸化物質である。動物実験では、抗酸化物質の摂取が心血管疾患に使用できる可能性を示しているが、残念ながら臨床試験では良好な結果が得られていないのが現状である²³。その理由として、抗酸化物質のROSに対する特異性、抗酸化成分の摂取量、ROS産生速度に関係があると考えられている²³。しかし、これまでの報告から少なくとも生体内で産生されたNOは抗酸化物質を摂取することにより安定化し、NOの生物学的利用能を向上させる²⁴。したがって、疾患予防を目的とする場合には硝酸塩だけでなく抗酸化物質の摂取も重要となる。本調査結果では、抗酸化能を示すORAC値の測定を行い製品Aと製品Cで同程度の値であり、製品Bは製品Aよりも高い値を示した。このことから、製品Bは製品Aに比べ硝酸塩含有量は少ないが、抗酸化能が高かったことから硝酸塩由来NOの生物学的利用率を向上させる可能性がある。しかし、我々が以前調査した製品Aと同一のビートルートジュースのORAC値は本調査の方で約2倍高い値であった¹⁶。また、Wangらの調査においてもビートルートの種類や加工方法の違いで抗酸化能（DPPH scavenging activity）に幅があることが示されている¹⁷。ことから、硝酸塩含有量と同様に同一製品であっても種類や加工方法によって抗酸化成分の含有量が大きく異なるものと考えられる。また本実験では、硝酸塩と抗酸化能以外にカリウム、糖分含有量、塩分含有量を測定した。その結果についても硝酸塩や抗酸化能の結果と同様に英国または国内で販売されている製品で含有

量が異なる結果となった。

以上のことから、同じビートルートジュース製品であっても英国販売と国内販売のものが成分含有量が大幅に異なること、同じ国内販売のものでも含有量に違いがあることが分かった。

本研究の限界点として、食材中の成分含有量は旬の時期、産地（土壌）、加工方法による影響を大きく受けることからさらに多くの検体で調査する必要がある、製品に含まれる硝酸塩濃度の違いが人に対してどの程度影響をするのかは不明であることから製品摂取後の血圧降下作用や血中硝酸イオンの濃度を測定し、製品ごとの違いを確認する必要がある。

【参考文献】

- 1) Clifford T, Howatson G, West DJ, Stevenson EJ. The potential benefits of red beetroot supplementation in health and disease. *Nutrients*. 2015; 14; 7(4): 2801-22.
- 2) Milton-Laskibar I, Martínez JA, Portillo MP. Current Knowledge on Beetroot Bioactive Compounds: Role of Nitrate and Betalains in Health and Disease. *Foods*. 2021; 7; 10(6): 1314.
- 3) 日本食品成分表2022（8訂）－文部科学省 日本食品標準成分表準拠－、医歯薬出版
- 4) Dos Santos Baião D, Vieira Teixeira da Silva D, Margaret Flosi Paschoalin V. A Narrative Review on Dietary Strategies to Provide Nitric Oxide as a Non-Drug Cardiovascular Disease Therapy: Beetroot Formulations-A Smart Nutritional Intervention. *Foods*. 2021; 15; 10(4): 859.
- 5) Bahrami LS, Arabi SM, Feizy Z, Rezvani R. The effect of beetroot inorganic nitrate supplementation on cardiovascular risk factors: A systematic review and meta-regression of randomized controlled trials. *Nitric Oxide*. 2021; 1; 115: 8-22.
- 6) Zamani H, de Joode MEJR, Hossein IJ, Henckens NFT, Guggeis MA, Berends JE, de Kok TCM, van Breda SGJ. The benefits and risks of beetroot juice consumption: a systematic review. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2021; 61(5): 788-804.

- 7) Lundberg JO, Weitzberg E. Nitric oxide signaling in health and disease. *Cell*. 2022; 4; 185(16): 2853-2878.
- 8) Carlström M. Nitric oxide signalling in kidney regulation and cardiometabolic health. *Nat Rev Nephrol*. 2021; 17(9): 575-590.
- 9) Torregrossa AC, Aranke M, Bryan NS. Nitric oxide and geriatrics: Implications in diagnostics and treatment of the elderly. *J Geriatr Cardiol*. 2011; 8(4): 230-242.
- 10) Lundberg JO, Carlström M, Weitzberg E. Metabolic effects of dietary nitrate in health and disease. *Cell Metab*. 2018; 28: 9-22.
- 11) 藤沼 賢司, 井部 明広, 田端 節子, 橋本 秀樹, 斎藤 和夫, 中里 光男, 石川 ふさ子, 守安 貴子, 嶋村 保洋, 菊地 洋子, 小川 仁志, 牛山 博文, 横山 敬子, 安田 和男. 野菜類等の硝酸根, 亜硝酸根含有量調査. 東京都健康安全研究センター研究年報. 2007, 第58号別刷.
- 12) Jonvik KL, Nyakayiru J, Pinckaers PJ, Senden JM, van Loon LJ, Verdijk LB. Nitrate-Rich Vegetables Increase Plasma Nitrate and Nitrite Concentrations and Lower Blood Pressure in Healthy Adults. *J Nutr*. 2016; 146(5): 986-93.
- 13) Lara J, Ashor AW, Oggioni C, Ahluwalia A, Mathers JC, Siervo M. Effects of inorganic nitrate and beetroot supplementation on endothelial function: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Nutr*. 2016; 55(2): 451-459.
- 14) Ohtake K, Koga M, Uchida H, Sonoda K, Ito J, Uchida M, Natsume H, Kobayashi J. Oral nitrite ameliorates dextran sulfate sodium-induced acute experimental colitis in mice. *Nitric Oxide*. 2010; 23, 65-73.
- 15) Kim MJ, Kim JI, Kang MJ, Kwon B, Jun JG, Choi JH, Kim MJ. Quality evaluation of fresh tomato juices prepared using high-speed centrifugal and low speed masticating household juicers. *Food Sci Biotechnol*. 2015; 24; 1: 61-66
- 16) 河野 有華, 藺田 邦博, 大竹 一男, 清水 彩子, 齋藤百花, 柴 祥子, 加園 恵三, 小林 順. 硝酸塩由来一酸化窒素補給を期待した市販野菜果物ジュース中の硝酸塩含有量と抗酸化能の比較. 金城学院大学論集自然科学編2022; 19(1): 1-8
- 17) Wang J, Jayaprakasha G, Patil BS. Untargeted Chemometrics Evaluation of the Effect of Juicing Technique on Phytochemical Profiles and Antioxidant Activities in Common Vegetables. *ACS Food Sci. Technol*. 2021, 1(1): 77-87.
- 18) 食品添加物一日摂取量総点検調査報告書2001年, 厚生省
- 19) Hord NG, Tang Y, Bryan NS. Food sources of nitrates and nitrites: the physiologic context for potential health benefits. *Am J Clin Nutr*. 2009; 90(1): 1-10.
- 20) JECFA. Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants. *WHO Technical Report Series* 1995; 859, 32-33.
- 21) Bondonno CP, Dalgaard F, Blekkenhorst LC, Murray K, Lewis JR, Croft KD, Kyrø C, Torp-Pedersen C, Gislason G, Tjønneland A, Overvad K, Bondonno NP, Hodgson JM. Hodgson. Vegetable nitrate intake, blood pressure and incident cardiovascular disease: Danish Diet, Cancer, and Health Study. *Eur J Epidemiol*. 2021; 36(8): 813-825.
- 22) Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, Gargiulo G, Testa G, Cacciatore F, Bonaduce D, Abete P. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging*. 2018; 26; 13: 757-772.
- 23) Forrester SJ, Kikuchi DS, Hernandez MS, Xu Q, Griendling KK. Reactive Oxygen Species in Metabolic and Inflammatory Signaling. *Circ Res*. 2018; 16; 122(6): 877-902.
- 24) Malekmohammad K, Sewell RDE, Rafieian-Kopaei M. Antioxidants and Atherosclerosis: Mechanistic Aspects. *Biomolecules*. 2019; 25; 9(8): 301.