

## カムカム飲料の抗酸化活性

白井 睦子・高村 一知\*

### The Antioxidant Activity of Camu-camu Drink

Mutsuko SHIRAI, Kazunori TAKAMURA\*

#### Abstract

This study investigated the antioxidant activity of Camu-camu drink by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical-scavenging activity, analyzing vitamin C and total polyphenol contents. The following results were obtained:

- 1) The vitamin C content of 60% Camu-camu drink (667mg/100ml) was higher than that of 80% Acerola drink (400mg/100ml).
- 2) The total polyphenol content of 60% Camu-camu drink (108mg/100ml) was lower than that of 80% Acerola drink (161mg/100ml), and higher than that of green tea (67mg/100ml).
- 3) The DPPH radical-scavenging activities were high in the order of 60% Camu-camu drink > 80% Acerola drink > green tea > 10% Camu-camu drink > 0.1% vitamin C solution. In particular, 60% Camu-camu drink (10,353 $\mu$ mol DPPH trapped/100ml) had DPPH radical-scavenging activity that was about twice higher than 80% Acerola drink (5,694 $\mu$ mol DPPH trapped/100ml).
- 4) The result of this research clarified that 60% camu-camu drink contained high vitamin C and polyphenol, and possessed the antioxidant activity.

**Key words:** antioxidant activity, Camu-camu drink, DPPH radical-scavenging activity, vitamin C, polyphenol

#### はじめに

カムカム (*Myrciaria dubia*) は南米ペルーのアマゾン川流域原産のフトモモ科の果物である。その果実は直径20～30mmの赤い実をしており、果肉中のビタミンC含量は2,400～3,000mg/100gで高い<sup>1)</sup>。ビタミンC含量の高い果物であるレモンは100mg/100g、アセロラは1,700mg/100g、グァバは220mg/100g、イチゴは62mg/100gのビタミンCを含んでおり<sup>2)</sup>、あらゆる果物と比較してもカムカムは最も高いビタミンCを含んでいる。また、カムカムにはアントシアニンなどのポリフェノールも含まれている<sup>3)</sup>。現在、ペルーではカムカムフルーツの生産を

\*立正大学

推奨しているが、現地で一次加工したもの以外は輸出禁止になっている。最近注目され始めた果物であるカムカム果汁の抽出<sup>4)</sup>や果実中の成分を定量した研究報告はあるが<sup>5), 6)</sup>、カムカム飲料の抗酸化活性を測定した研究報告は少ない。本研究では、カムカム飲料の抗酸化活性を検討するために、ビタミンC含量、総ポリフェノール含量、DPPHラジカル捕捉活性を測定した。

## 方 法

### 1. 試料

試料はアマゾンカムカム(株)より入手した10%および60%カムカム飲料を用いた。比較試料として、緑茶((株)伊藤園)、80%アセロラ飲料((株)ニチレイ)を用いた。緑茶は茶葉1gに100mlの熱水を加え1分間抽出した通常飲用濃度を試料溶液とした。

### 2. 試薬

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) およびL-アスコルビン酸は和光純薬工業(株)より、フェノール試液および没食子酸はナカライテスク(株)より購入した。その他の試薬はすべて市販の特級試薬を用いた。

### 3. ビタミンC (アスコルビン酸) の定量 (ヒドラジン比色法)

総アスコルビン酸の測定は試料溶液1mlに0.2%インドフェノール溶液0.1mlを添加して、アスコルビン酸をデヒドロアスコルビン酸に酸化した後、2%チオ尿素/5%メタリン酸1mlと2%2,4-ジニトロフェニルヒドラジン溶液/9N硫酸0.5mlを加え混和し、70℃で30分間反応させた。反応終了後、85%硫酸2.5mlを加えてよく混和し、室温で30分放置後、540nmにおける吸光度を測定した。

なお、酸化型アスコルビン酸を測定する際は0.2%インドフェノール溶液の変わりに蒸留水を添加し、その他は総アスコルビン酸の測定と同様に操作した。

### 4. ポリフェノールの定量 (Folin-Denis法)<sup>7)</sup>

ポリフェノールの定量はFolin-Denis法に準じ、試験管に蒸留水2.7ml、フェノール試薬0.2ml、試料0.1mlを加え混和後、10%Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>溶液1mlを加えて全量を4.0mlとした。よく混和後、室温で30分間放置し、760nmにおける吸光度を測定した。別に没食子酸を標準物質として用い検量線を作成し、これより総ポリフェノール含量を算出した。なお、0.1%ビタミンC溶液もポリフェノール含量(108±18mg/100ml)として検出されるため、全ての試料のポリフェノール含量からビタミンCとして検出されるポリフェノール含量を差し引き、試料のポリフェノール含量を算出した。

### 5. DPPHラジカル捕捉活性の測定<sup>8)</sup>

DPPHラジカル捕捉活性の測定は褐色試験管に100mMトリス-塩酸緩衝液(pH7.4)1.8-2ml、0.5mM DPPH/エタノール溶液2ml、試料溶液20-200μlを混和し、20分間反応(遮光下)させた後、517nmにおける吸光度を測定した。80%アセロラ飲料および60%カムカム飲料は蒸留水で10倍に希釈し、測定溶液とした。システインを標準物質として用い、1molのシステインが1mol

のDPPHを捕捉するとして、DPPHラジカル捕捉活性 ( $\mu\text{mol DPPH trapped}/100\text{ml sample}$ ) を算出した。

## 6. 全糖の定量 (フェノール・硫酸法)

糖の定量はフェノール・硫酸法で行った。すなわち、試験管に試料溶液 1 ml, 5%フェノール溶液 1 ml, 濃硫酸 5 mlを加え混合後、室温になる前で放置し、490nmにおける吸光度を測定した。グルコース溶液を標準物質として検量線を作成し、これより全糖量を算出した。

## 結果および考察

### 1. ビタミンC含量

ビタミンC (アスコルビン酸) は水溶性の抗酸化物質である。カムカムは高いビタミンCを含んでいる。そこで、試料中のビタミンC含量をヒドラジン比色法により測定し、その結果をFig. 1に示した。ラベル表示と実測値はほぼ同じ値を示した。ビタミンC含量は60%カムカム飲料 > 80%アセロラ飲料 > 10%カムカム飲料 > 緑茶の順に高かった。60%カムカム飲料 (667mg/100ml) は80%アセロラ飲料 (400mg/100ml) より高いビタミンC含量を示した。

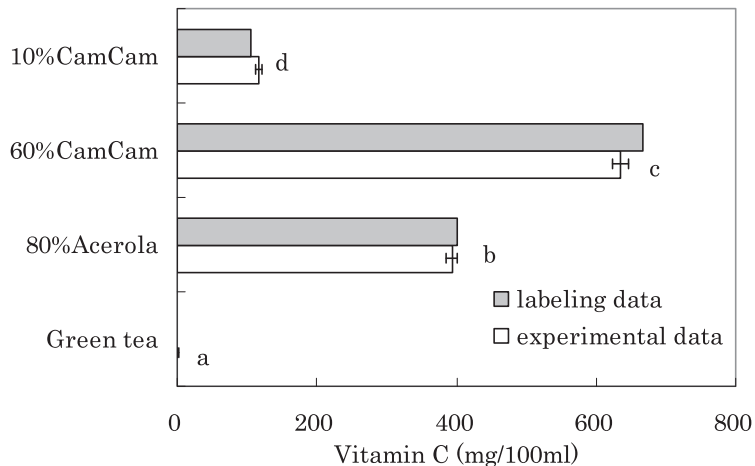


Fig. 1 Vitamin C content of several drinks. Each value is calculated as the mean  $\pm$  SD from three independent experiments. Means with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

### 2. ポリフェノール含量

Folin-Denis法による試料100mlに含まれる総ポリフェノール含量を没食子酸当量で表した (Fig. 2)。

総ポリフェノール含量は80%アセロラ飲料 > 60%カムカム飲料 > 緑茶 = 10%カムカム飲料の順に高かった。60%カムカム飲料 (108mg/100ml) の総ポリフェノール含量は80%アセロラ飲料 (161mg/100ml) より低い。緑茶 (67mg/100ml) より高い値を示した。アセロラ飲料とカムカム飲料のポリフェノールは赤色系の色素であるシアニジン類、緑茶のポリフェノールはカテキン

類と考えられる。

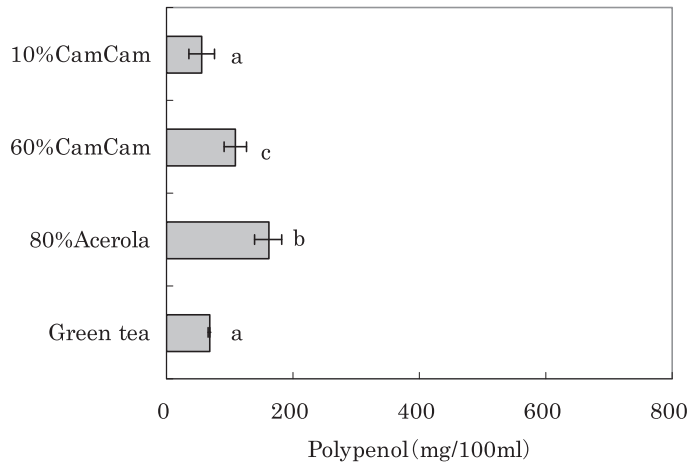


Fig. 2 Polyphenol content of several drinks. Each value is calculated as the mean  $\pm$  SD from three independent experiments. Means with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

### 3. DPPHラジカル捕捉活性

DPPHはエタノール溶液中で安定なラジカルを形成し、ラジカルの消失とともにDPPHラジカルに由来する紫色が退色する性質を有している。そのため近年DPPHを用いた比色法によるラジカル消去評価は、簡易な手法として汎用されている。本研究では、反応溶液の退色、すなわち517nmにおける吸光度の減少が試料添加量に比例する範囲内において、試料溶液のDPPHラジカル捕捉活性を測定した。その結果、カムカム飲料はDPPHラジカルを濃度依存的に消去した (Fig. 3)。いずれの試料も濃度依存的にDPPHラジカルを捕捉した。特に60%カムカム飲料と80%アセロラ飲料は強いラジカル捕捉活性を示し、原液では測定できないため、原液を10倍に希釈して試料用液とした。

Fig. 4に各種飲料のDPPHラジカル捕捉活性を示した。DPPHラジカル捕捉活性は60%カムカム飲料 > 80%アセロラ飲料 > 緑茶 = 10%カムカム飲料 = 0.1%ビタミンC溶液の順に高かった。60%カムカム飲料 (10,353 $\mu$ mol DPPH trapped /100ml sample) は80%アセロラ飲料 (5,694 $\mu$ mol DPPH trapped/100ml sample) より約2倍高い活性を示した。緑茶 (1,679 $\mu$ mol DPPH trapped/100ml sample), 10%カムカム飲料 (1,571 $\mu$ mol DPPH trapped/100ml sample) および0.1%ビタミンC溶液 (1,189 $\mu$ mol DPPH trapped/100ml sample) は同程度のDPPHラジカル捕捉活性を示した。カムカム飲料とアセロラ飲料の抗酸化活性にはビタミンCおよびポリフェノールが、茶の抗酸化活性にはポリフェノールが関与していると考えられる。

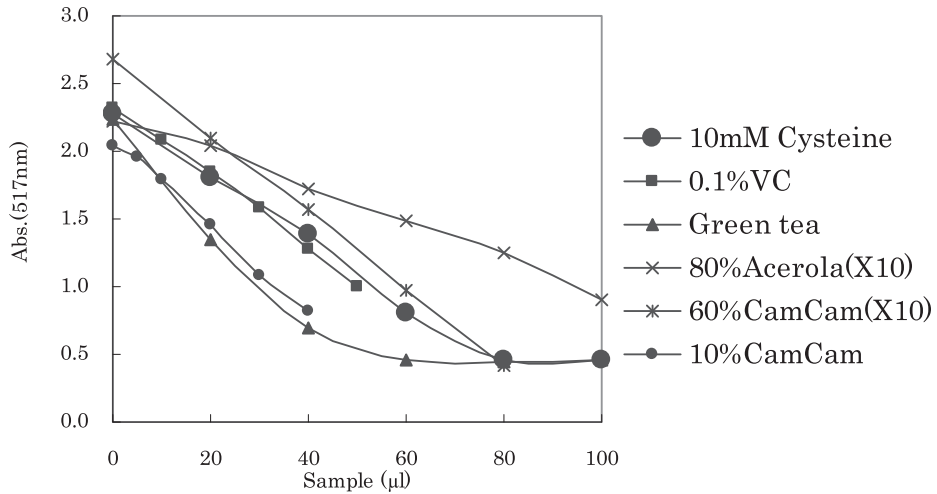


Fig. 3 DPPH radical-scavenging activity of several drinks. Y axis expressed a decrease in absorbance intensity at 517nm.

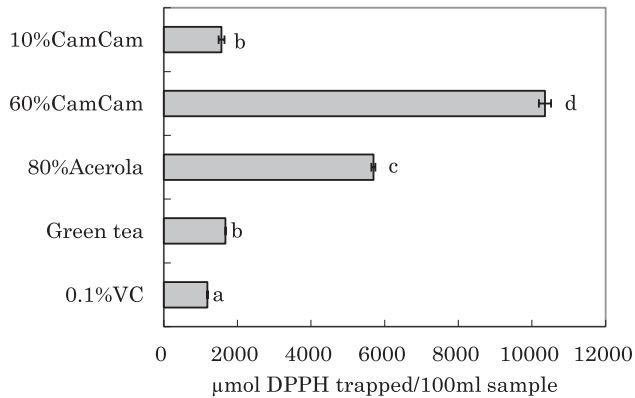


Fig. 4 DPPH radical-scavenging activity of several drinks. Each value is calculated as the mean  $\pm$  SD from three independent experiments. Means with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

#### 4. DPPHラジカル捕捉活性とビタミンC含量および総ポリフェノール含量との相関性

DPPHラジカル捕捉活性とビタミンCおよび総ポリフェノール含量との相関性を得られたデータを用いて解析した。横軸にビタミンC含量とポリフェノール含量、縦軸にDPPHラジカル捕捉活性を表した (Fig. 5)。飲料のDPPHラジカル捕捉活性とビタミンCおよび総ポリフェノール含量の相関係数は $r=0.9409$ で、飲料のDPPHラジカル捕捉活性とビタミンCおよび総ポリフェノール含量との間に強い相関関係があることが示唆された。

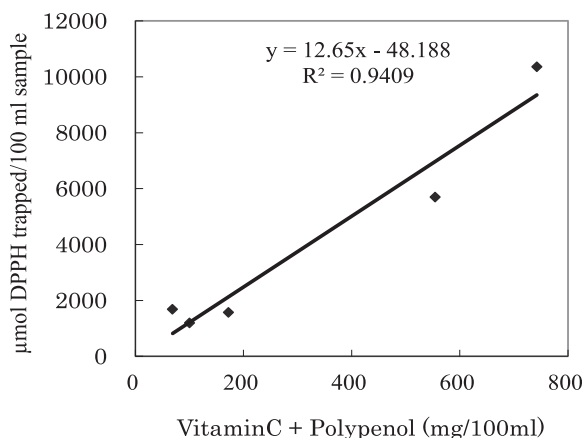


Fig. 5 The correlation between DPPH radical-scavenging activity and vitamin C and polyphenol content. The data was plotted with DPPH radical-scavenging activity as ordinate and vitamin C and polyphenol content as abscissa.

### 5. 全糖量

フェノール・硫酸法による試料中の全糖量はFig. 6に示した。全糖量は80%アセロラ飲料 (13g/100ml) >60%カムカム飲料 (10g/100ml) >10%カムカム飲料 (7g/100ml) の順に高かく、果汁濃度の高い順に糖濃度も高い値を示した。これらの飲料は酸味を持っており、飲みやすくするために、はちみつや果糖ブドウ糖液が添加されていると考えられる。なお本実験の抗酸化活性の測定法にこれらの糖は影響しないことも確認した。

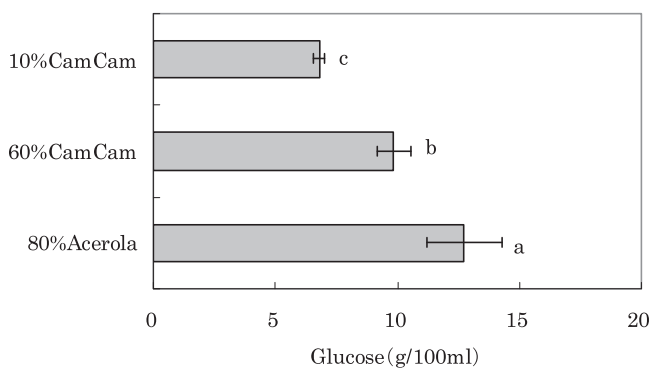


Fig. 6 Glucose content of several drinks. Each value is calculated as the mean  $\pm$  SD from three independent experiments. Means with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

## ま と め

本研究では、カムカム飲料の抗酸化活性を検討するために、ビタミンC含量、総ポリフェノール含量、DPPHラジカル捕捉活性を測定し、以下の結果を得た。

- 1) ビタミンC含量は60%カムカム飲料 (667mg/100ml) が80%アセロラ飲料 (400mg/100ml) より高かった。
- 2) 総ポリフェノール含量は60%カムカム飲料 (108mg/100ml) が80%アセロラ飲料 (161mg/100ml) より低いが、緑茶 (67mg/100ml) より高かった。
- 3) DPPHラジカル捕捉活性は60%カムカム飲料>80%アセロラ飲料>緑茶>10%カムカム飲料>0.1%ビタミンC溶液の順に高く、60%カムカム飲料 (10,353 $\mu$ mol DPPH trapped/100ml sample) は80%アセロラ飲料 (5,694 $\mu$ mol DPPH trapped/100ml sample) より約2倍高い活性を示した。
- 4) 本研究の結果から60%カムカム飲料は強い抗酸化活性を示し、その活性には高濃度のビタミンCおよびポリフェノールが関与していることが明らかとなった。

## 参 考 文 献

- 1) Justi KC, Visentainer JV, Evelázio de Souza N, Matsushita M. Nutritional composition and vitamin C stability in stored camu-camu (*Myrciaria dubia*) pulp. *Arch Latinoam Nutr.*, 50(4), 2000, 405-8.
- 2) 香川芳子, 五訂増補食品成分表, 女子栄養大学出版部. 2011
- 3) Zanatta CF, Cuevas E, Bobbio FO, Winterhalter P, Mercadante AZ. Determination of anthocyanins from camu-camu (*Myrciaria dubia*) by HPLC-PDA, HPLC-MS, and NMR. *J Agric Food Chem.* 53(24), 2005, 9531-5.
- 4) Dib Taxi CM, de Menezes HC, Santos AB, Grosso CR. Study of the microencapsulation of camu-camu (*Myrciaria dubia*) juice. *J Microencapsul.* 20(4), 2003, 443-8.
- 5) Ueda H, Kuroiwa E, Tachibana Y, Kawanishi K, Ayala F, Moriyasu M. Aldose reductase inhibitors from the leaves of *Myrciaria dubia* (H. B. & K.) McVaugh. *Phytomedicine.* 11(7-8), 2004, 652-6.
- 6) Franco MR, Shibamoto T. Volatile composition of some Brazilian fruits: umbu-caja (*Spondias citrerea*), camu-camu (*Myrciaria dubia*), Araça-boi (*Eugenia stipitata*), and Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). *J Agric Food Chem.* 48(4), 2000, 1263-5.
- 7) Folin, O. and Denis, W., *J. Biol. Chem.*, 22, 1915, 305-8.
- 8) Blois MS, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature* 181, 1958, 1199-1200.

[2015. 6. 25 受理]