

研究テーマ：安芸太田町の特産品「祇園坊柿」による新型コロナウイルスの撃退	
研究代表者：地域創生学部 地域創生学科 健康科学コース 教授 谷本昌太	連絡先：s-tanimoto@pu-hiroshima.ac.jp
共同研究者：地域創生学部 地域創生学科 健康科学コース 助教 古田歩 総合学術研究科 人間文化学専攻 大学院生 吉野智哉	
<p>【研究概要】</p> <p>安芸太田町で栽培されている渋柿「祇園坊柿」の青柿は、これまで未利用資源として廃棄されている。そこで、この青柿の効利用を目的にその抗ウイルス活性や各種成分を分析し、他品種と比較した。抗ウイルス活性は、渋柿が甘柿に比べて高く、「祇園坊柿」は、夏季の試料で高い活性を示した。可溶性タンニンは渋柿が甘柿に比べて高い値を示した。可溶性タンニンも、成熟に伴い減少し、一部の例外を除いて未成熟の渋柿が甘柿に比べて高い値を示した。以上の結果、「祇園坊柿」の青柿を抗ウイルス剤として活用できる可能性が示唆された。</p>	

【研究内容・成果】

1. 研究内容

安芸太田町で日本一の生産量を誇る渋柿「祇園坊柿」が栽培されている。この青柿は、これまで利用価値がなく未利用資源として廃棄されている。渋柿や未熟な甘柿には、タンニンが多く含まれており、抗酸化作用などの機能性を示すほか、インフルエンザ、ポリオなどのウイルスの不活性化作用（抗ウイルス活性）を示す。したがって、現在、社会問題である新型コロナウイルスに対しても抗ウイルス活性を示す可能性が高い。そこで、本研究では「祇園坊柿」の青柿を有効利用することを目的に「祇園坊柿」の成熟段階におけるタンニン含量の他、各種成分（有機酸および糖組成）の変動を明らかにするとともに青柿および熟し柿の上記成分の他、抗ウイルス活性および可溶性タンニン含量を他の品種の渋柿と比較した。さらに、青柿から効率的なタンニンの抽出方法を検討した。

供試試料として、完全渋柿である「祇園坊」、「西条」、不完全渋柿である「平核無」、完全甘柿である「次郎」、「富有」、「太秋」、の6種を、7月から収穫までの間、月に1回採取して用いた。「祇園坊」は、広島県山縣郡安芸太田町の農家の圃場より、それ以外の品種は、広島県東広島市安芸津町の農研機構果樹茶業研究部門ブドウ・カキ研究拠点の圃場から入手した。

柿の可食部を凍結乾燥後、粉碎し、試料とした。この試料に蒸留水を用いてタンニンを抽出（蒸留水抽出液）し、抗ウイルス活性、可溶性タンニンおよび糖組成の測定に用いた。

抗ウイルス活性の測定において、新型コロナウイルスやインフルエンザウイルスなどエンベロープウイルスのモデルとしてΦ6バクテリオファージ（NBRC 105899）を、ノロウイルスやロタウイルスなどのノンエンベロープウイルスとしてQβバクテリオファージ（NBRC 20012）を用いた。一方、感染させる細菌として前者では、*Pseudomonas syringae*（NBRC 14084）を、後者では大腸菌 *Escherichia coli*（NBRC 106373）を用いた。活性測定は、柿の蒸留水抽出液とファージを任意の濃度に希釈し混合したのち、細菌を加えたLB軟寒天培地と混合し、LB寒天培地に流し込み25℃（*Pseudomonas syringae*）または37℃（大腸菌）で一晩培養した。出現したプラークを計測し、残存ウイルス感染価を求め、ウイルス不活化効果（LRV）を算出した。LRVを縦軸、柿重量を横軸としたグラフから傾きを算出し、これを抗ウイルス活性として品種間および成熟段階の比較を行った。

可溶性タンニンは、柿の蒸留水抽出液を用いてFolin-Denis法により測定した。

有機酸組成は、果実から有機酸を過塩素酸により抽出し、発色剤としてブロムチモールブルーを用いたHPLC（ポストカラム法）により分析した。糖組成は、果実から糖質を蒸留水により抽出し、検出器として示差屈折計を用いたHPLCにより分析した。

抽出法の検討において、加水量の影響は、「祇園坊」の未熟果肉に対し1倍量，2倍量の水道水を加え，それぞれ1～3回抽出し，抽出効率を比較した。凍結・融解の影響は，果実を1回および2回融解・解凍を行い，未処理の試料と回収率を比較した。

可溶性タンニンの熱安定性は，柿の蒸留水抽出液を100℃で5～60分間加熱およびオートクレーブで121℃，15分間加熱後，可溶性タンニン含量を測定し，未処理の試料と比較した。

2. 研究成果

抗ウイルス活性は，Φ6バクテリオファージとQβバクテリオファージのいずれも渋柿が甘柿に比べて高く，同一採取月において一部を除き，「西条」に比べて低いものの「祇園坊柿」は，相対的に高い活性を示した。また，いずれのファージにおいても一部例外があるものの未熟な柿が成熟した柿に比べて高い抗ウイルス活性を示し，「祇園坊柿」では，7月から9月の青柿が高い活性を示した。これらのことは，「祇園坊柿」の青柿がコロナウイルスのようなエンベロープウイルスだけでなく，ノロウイルスなどのノンエンベロープウイルスに対しても抗ウイルス剤として利用可能なことを示唆している。また，「祇園坊柿」が熟す前の適切な時期に摘果を行い，抗ウイルス剤の原料として利用する必要があることを示した。

可溶性タンニンは，抗ウイルス活性と同様に成熟に伴い減少し，一部の例外を除いて未成熟の渋柿が甘柿に比べて高い値を示した。また，「祇園坊柿」や「西条」の中で高い可溶性タンニン量を示した試料は，高い抗ウイルス活性を示す傾向であった。このことから，タンニンが柿の抗ウイルス活性に寄与していると推察され，これまでの報告と一致した。

採取期間を通じて，クエン酸が柿の主要な有機酸であった。成熟に伴いコハク酸や酢酸が増加した。これらの絶対量は，渋柿と甘柿の違いよりも，品種に依存した。渋柿と甘柿ともにフルクトースおよびグルコースが含まれ，成熟により一部の品種を除いて増加した。スクロースは，採取期間を通じて不検出または成熟に伴い不検出となった。

可溶性タンニンの抽出率は，有意ではないものの加水量を多くすることで抽出率が増加し，抽出を2回繰り返すことで有意に抽出率が向上した。凍結の影響については，処理により抽出率が減少した。これは，凍結融解により柿の組織がゲル化し保水量が高くなったためと考えられる。したがって，凍結融解を行わずに試料に対して2倍量の水で2回抽出することで効率的にタンニンを多く抽出できることが明らかとなった。タンニンの加熱処理の影響について，処理により可溶性タンニン含量は増加したが，有意差はなかった。また，オートクレーブ処理において最も高い可溶性タンニン含量を示した。このことから，抽出液中のタンニンは，加熱に対して安定であり，抗ウイルス活性が加熱後も維持可能なことが示唆された。

以上の結果から「祇園坊柿」の青柿をコロナウイルスやノロウイルスなど広範なウイルスに対する抗ウイルス剤として活用する可能性が示唆された。また，本結果は，「祇園坊柿」を用いたアルコール製剤（殺菌・抗ウイルス剤）やせっけんなど抗ウイルスを目的とした製品の開発において有用な知見となった。さらに，その他の分析結果は，食品加工への応用など青柿の有効利用のために基礎データになるとともに，適切な摘果による高品質な「祇園坊柿」の生産が期待された。

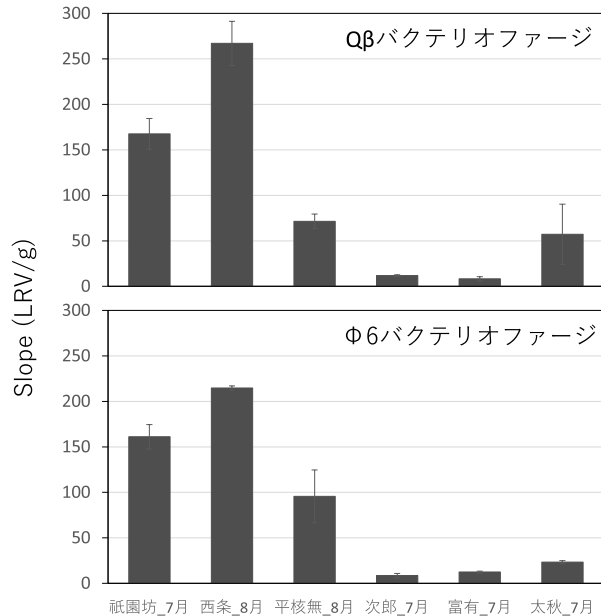


図 柿の抗ウイルス活性