

家庭科における教科横断的授業のためのカカラ葉の 教材化に関する基礎的研究

中村 泰彦*・田島 真理子*

(1997年10月15日 受理)

A Basic Study of Kakara Leaves as Teaching Materials for a Cross Curriculum in Homemaking Education

Yasuhiko NAKAMURA* and Mariko TAJIMA*

はじめに

カカラはサルトリイバラ科 (*Smilacaceae*) のつる性の植物で¹⁾、その葉は餅や団子を包むのに使用される²⁾。また、果実が晩秋に赤熟するものは、生け花の材料として用いられている。鹿児島では、この葉で包んだ団子はかからんだごと称して古くから端午の節句や祝い事にちなんで家庭で作られてきた^{3)~5)}が、最近では一般のお菓子と同様に、葉の採取できる時期であれば特に行事に関係なく作られ、市販されている。カカラの葉を団子に用いている理由は、葉の香りを楽しむ、団子がくっつかないようにする、外観をよくするなどが考えられるが、もうひとつの重要な理由は団子の保存性の向上にあるのではないかと考えられる。

サルトリイバラ (*Smilax china*) を含むシオデ属の植物は熱帯から温帯にかけて多くの種が分布しているが、鹿児島でも北部から南部の屋久島、奄美大島にかけて特有の種を含めて数種が存在し⁶⁾、それらは一般にカカラと呼ばれている。主に山地の林の周辺部などに生えているが、低地でも郊外の神社や自然公園などでときどき見ることができる身近な植物である。カカラの葉は、鹿児島では春から初冬まで採取することができ、教材としては冬枯れの時期を除きほぼ年中利用することができるという利点がある。また、採取も深い山や林に分け入るという必要がなく容易である。

本研究は、カカラの葉を教材として用い、家庭科食物領域の学習を理科や地理歴史科の教科内容をも含めた教科横断的な授業として行うことを前提にして、授業設計のための基礎的資料を得る目的で行った。

*鹿児島大学教育学部

実験方法

1. 試料

カカラの葉は鹿児島市の下福元町および吉野町で5月から9月にかけて採取したが、季節別比較のための試料は12月にも採取した。つるから葉柄ごとにもぎ取った葉は、葉柄基部の巻きひげを含むものは取り除き、湿らせたガーゼで表面の汚れをふき取って使用した。採取当日に使用できないときは、ポリ袋に入れて冷蔵庫に保存し、1週間以内に使用した。乾燥葉は、汚れをふき取った生葉を室温で1~2日間風乾させた後、60℃の通風乾燥器に24時間入れて乾燥して作った。これは厚手のポリ袋に入れて、密封冷蔵した。使用に当たっては、粉碎器（岩谷産業(株)製、IMF-200）で細かい粉末とし、ただちに使用するか、あるいは密閉できるポリ容器に入れ短期冷蔵した。

2. 試薬

培地用のポリペプトン、酵母抽出物、麦芽抽出物、寒天はそれぞれ日本製薬、半井化学薬品、Becton Dickinson and Co., Difco Laboratories の製品を使用した。その他の薬品は、市販の特級品または1級品を使った。

3. 成分の抽出と分画

1) 生葉からの抽出

生葉15gをはさみで細かく切り、5℃に冷やした蒸留水100mlとともにステンレス製のカップに移し、カップの外側を氷水で冷やしながらかホモジナイザー（(株)日本精機製作所製、エクセルオートDX-3）で12,000rpmで30秒ずつ断続的に処理し、合計3分間磨砕した。成分の抽出をよくするために冷蔵庫に1時間保持し、No.2のろ紙でろ過した後、ろ液を45℃でロータリーエバポレーターを用いて2mlに減圧濃縮し、これを生葉の冷水抽出液とした。

2) 乾燥葉からの抽出

乾燥葉の粉末2gを200mlのナス型フラスコに入れ、抽出溶媒100mlを加え、還流冷却器を付けて溶媒の沸点温度で30分間抽出した。抽出溶媒には蒸留水、メタノール、アセトン、酢酸エチル、エチルエーテル、ヘキサンを使用した。抽出後、No.2のろ紙でろ過し、ろ液は45℃で2mlに減圧濃縮した。蒸留水を抽出溶媒としたときのものを、乾燥葉の熱水抽出液とした。

3) 透析

カカラ葉の熱水抽出液10mlを分画分子量1,000のセルロースチューブ（Spectrum Co製、スペクトラ/ポア6）に入れ、蒸留水500mlを入れたビーカー中につるし、5℃で攪拌しながら合計3日間透析した。途中、蒸留水は3回交換し、それらは合わせて45℃で10mlに減圧濃縮し、透析外液とした。透析終了後のチューブ内部液も10mlに減圧濃縮し、透析内液とした。

4) カラムクロマトグラフィー

内径2.6cmのガラスカラムにセルロースイオン交換体(株)チッソ製, CM-セルロファイン C-200)を充填し, 液のpHと電気伝導度がカラムの入口と出口で同じになるまで, アンモニア水でpHを3.0に調整した0.02M ギ酸をマイクロポンプで流してカラムを平衡化させ, ベッドの高さを40cmとした。透析外液10mlをポンプでカラムに注入し, 続いて溶出溶媒を100ml/hrの流速で流し, カラムからの溶出液は10mlずつフラクションコレクターに集めた。カカラの成分は, ギ酸のpHをアンモニア水で3.0, 4.0, 5.0, 6.0とした0.02M ギ酸-アンモニア溶液を順次300mlずつ流し, 最後に0.02Mのアンモニア水を流すことで溶出させた。溶出液はモニターで280nmの吸収を測定し, 記録した。溶出液をクロマトグラムのピークごとに分けて集め, 45°Cで2ml程度になるまで減圧濃縮し, これを水酸化ナトリウムまたは濃硫酸を吸湿剤とした吸引デシケーターに入れて吸引し, 溶媒を除去した。これを少量の蒸留水に溶かし, pHが5~7になるまで中和した後, 蒸留水を加えて1.5mlにして抗菌試験の試料とした。使用後のCM-セルロファインは水酸化ナトリウムと塩酸を用いて再生した。

4. 抗菌試験

供試菌は, 細菌として *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, 酵母として *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia anomala*, かびとして *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium chrysogenum* を使用した。これらの微生物は発酵研究所から購入した。細菌用の培地には液体培地として702培地を, 寒天培地として802培地を, また酵母用の培地には液体培地として703培地を, 寒天培地として108培地を用いた⁷⁾。かびの培養にはポテト・スクロース寒天 (PSA) 培地⁷⁾を用いた。

細菌と酵母は抗菌試験に使うに当たり前培養を行った。保存用に植え継いだ試験管の斜面培地から細菌または酵母をループにかき取り, 10mlの液体培地を入れたL型試験管に移し入れ, 細菌は30°Cで, 酵母は28°Cで6時間振とう培養した。1.5%の寒天液10mlを入れて固めた直径9cmのシャーレに, 前培養液0.1mlに対して溶かして45°Cに保温した寒天培地9.9mlの割合の混合液10mlを重層した。寒天が固まった後, 抗生物質検定用のペーパーディスク (東洋濾紙(株)製, 直径8mm・厚手) を試験液に浸し, 余分な試験液をろ紙に吸い取らせて除去したものを, 寒天培地表面に密着するように置き⁸⁾, 30°C (細菌) または28°C (酵母) で24時間培養した。

かびは孢子を試験に使った。保存用の試験管斜面培地に, 0.05%のジオクチルスルホコハク酸ナトリウム溶液5mlを加え, 振って孢子をけん濁させた。孢子けん濁液0.1mlに対して溶かして45°Cに保温したPSA培地9.9mlの割合の混合液10mlを, 細菌の場合と同じようにシャーレの中の1.5%寒天上に重層し, ペーパーディスクによる試験に供した。培養は24°Cで24時間行った。

所定時間培養した後, 増殖阻止円が見られるものはその直径を測り, これからペーパーディスクの直径を差し引いたものを増殖阻止帯の幅として表し, 試験液の抗菌活性の指標とした。

結果と考察

1. 葉の抗菌活性

かからんだごは、米粉、小豆あんまたはよもぎ、砂糖を混ぜて丸めたものをカカラの葉2枚に挟み包んで蒸したものである。葉の成分は蒸す過程でだんごに移行すると考えられるので、葉に由来するだんご中の成分は水溶性のものが多と思われるが、香り成分のように揮発性のものや脂溶性のものも少量は移行していることは、だんごの香りからも明らかである。そこで、カカラ葉の成分を、極性の強い水から極性の弱いヘキサンまで各種の溶媒で抽出し、抽出液の抗菌性を *Bacillus cereus* を使って試験した。結果は表1に示すように、抗菌性は水抽出液で最も強く、次がメタノール抽出液で、メタノールより極性の弱いアセトン、酢酸エチル、エチルエーテル、ヘキサンでは抗菌活性は抽出されなかった。なお、ここでは材料として乾燥した葉を使用したため熱水抽出を行ったが、生の葉の場合は後述するように、冷水でも十分に抗菌活性は抽出される。カカラと同じようにだんごを包むのに用いられているサネンの葉の抗菌性成分は水では抽出されず、逆にエチルエーテルなど極性の弱い溶媒で抽出される⁹⁾。一般に香辛料や香草、香辛野菜など香りのある植物では抗菌性物質として脂溶性の成分を含むものが多いが、カカラの抗菌性成分はこれらとは異なり、水溶性であった。食品の保蔵性ということから言えば、その抗菌性成分が広

い範囲の微生物に対して有効であることが望ましい。そこで、代表的な細菌、酵母、かびの増殖に対する水抽出液の効果を調べた。乾燥葉の熱水抽出では、乾燥(60℃)過程や抽出(100℃)過程で葉の成分が熱変化することも考えられるので、生葉を用いた冷却下での磨砕・抽出も行った。結果

表1 抗菌性成分の溶媒抽出性

抽出溶媒 ^a	増殖阻止帯の幅(mm) ^b
水	11.0
メタノール	7.3
アセトン	0
酢酸エチル	0
エチルエーテル	0
ヘキサン	0

^a抽出方法および抽出液の調製方法は本文の実験方法に記述。^bペーパーディスク法による。*Bacillus cereus* 菌を使用。数値は増殖阻止円の直径からペーパーディスクの直径を差し引いたもの。

表2 細菌、酵母、かびの増殖に対する抽出液の効果

微生物 ^a	増殖阻止帯の幅(mm) ^b	
	生葉の冷水抽出液 ^c	乾燥葉の熱水抽出液 ^c
<i>Bacillus subtilis</i>	3.6	3.3
<i>Bacillus cereus</i>	11.6	8.0
<i>Proteus vulgaris</i>	15.4	11.9
<i>Staphylococcus aureus</i>	12.9	12.5
<i>Escherichia coli</i>	9.7	8.2
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	7.2	7.4
<i>Candida albicans</i>	0.7	1.7
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1.8	0.7
<i>Pichia anomara</i>	0.3	1.4
<i>Aspergillus niger</i>	0.2	0.2
<i>Rhizopus stolonifer</i>	0	0
<i>Penicillium chrysogenum</i>	0	0

^a細菌は繰り返し4回の、酵母とかびは繰り返し2回の実験の平均値。^bペーパーディスク法による。数値は増殖阻止円の直径からペーパーディスクの直径を差し引いたもの。^c表1の注aと同じ。

表3 抽出液中の非透析性成分と透析性成分の抗菌活性

微生物	増殖阻止帯の幅 (mm) ^a			
	生葉の冷水抽出液 ^b		乾燥葉の熱水抽出液 ^b	
	非透析性 ^c	透析性 ^d	非透析性 ^c	透析性 ^d
<i>Bacillus subtilis</i>	0	3.1	2.9	4.5
<i>Bacillus cereus</i>	0.1	5.1	1.0	0.8
<i>Proteus vulgaris</i>	2.7	13.9	6.1	11.4
<i>Staphylococcus aureus</i>	5.5	13.1	4.5	11.7
<i>Escherichia coli</i>	0.5	2.0	0	4.7
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1.6	4.9	3.3	4.0
<i>Candida albicans</i>	0	0.8	0	1.2
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0	1.2	0	1.2
<i>Pichia anomala</i>	0	0	0	0.3
<i>Aspergillus niger</i>	0	0	0	0
<i>Rhizopus stolonifer</i>	0	0	0	0
<i>Penicillium chrysogenum</i>	0	0	0	0

^a表2の注bと同じ。 ^b表1の注aと同じ。 ^cセルロースチューブ(分画分子量1000)に抽出液を入れ、50倍量の蒸留水に対して5℃で、途中外側の蒸留水を3回交換して、72時間攪拌透析した透析内液。 ^d透析により得られたチューブ外部の液を合わせて濃縮したもの。

は表2にまとめた。生葉の冷水抽出液と乾燥葉の熱水抽出液では生葉の冷水抽出液の方がやや活性が強い傾向が見られたが、それぞれの抽出液2 mlの調製に使用した材料の量は、生葉は15 g、乾燥葉粉末は2 gであり、生葉および乾燥葉粉末の水分含量(平均81.1%および9.1%)を考慮すると、抗菌活性の抽出には乾燥葉を熱水抽出する方がよいと言えるだろう。また、乾燥葉は長期の貯蔵が容易であるので、生の葉が採取できない時期にも実験材料として使える。教科の授業進行に合わせて、いつでも実験授業を計画することができるという利点がある。

微生物の種類について見ると、一般に細菌に対しては増殖抑制効果があるが、酵母、かびに対してはほとんどあるいは全く効果が認められなかった。カカラ葉の食品保存における役割を確かめるというような実験を行うに当たってモデルとして特定の微生物を使用するときには、使用微生物の選択に注意する必要がある。また、腐敗の実験に食品を使うときは水分活性の高い、つまり細菌類が繁殖できる食品を選ぶことが大事である。もちろん、食品の腐敗現象の主役が細菌であることは間違いないが、食品の種類によっては酵母やかびによる変質が重要である場合もあるので、カカラの葉が食品の腐敗に関与する微生物に対して万能でないことは留意しておく必要がある。

カカラ葉の水溶性成分としては、有機酸、アミノ酸、塩類などの低分子成分と多糖、蛋白質などの高分子成分が考えられる。そこで分画分子量1,000の透析膜を使って抽出液の透析を行い、その濃縮物の抗菌活性を調べた。結果を表3にまとめた。抗菌活性は生葉の冷水抽出液、乾燥葉の熱水抽出液とも透析性画分で強く、非透析性画分では弱かった。透析性画分に対する非透析性画分の相対値は乾燥葉の熱水抽出液の方が生葉の冷水抽出液より大きい傾向を示した。乾燥葉の熱水抽出液

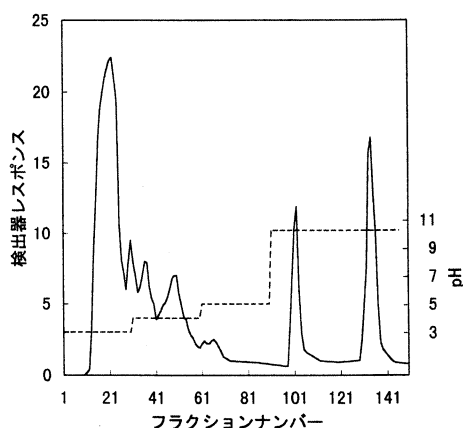


図1 イオン交換クロマトグラフィーによる画分の抗菌活性

カラム：CM-セルロファインC-200、2.6X40cm
 溶出液：アンモニア水でpHを調整した0.02Mギ酸
 流速：100ml/hr
 試料：透析外液10ml
 分取：10ml/フラクション

は着色の程度が大きく、葉の乾燥や加熱抽出の段階でアミノ・カルボニル反応が起こっている可能性が高い。アミノ・カルボ

ニル反応により生じる高分子の色素メラノイジンに抗菌性があることはよく知られているので、非透析性画分の抗菌活性の一部はこれによることも考えられる。しかし、生葉の冷水抽出液の透析性画分で強い活性が認められるので、カカラ葉にもともと含まれている抗菌性成分は水溶性の低分子であると言える。抗菌性成分を更に精製するために、イオン交換クロマトグラフィーを行った結果を図1と表4に示した。抗菌活性は4つの画分(A, D, E, F)に認められたが、最も強いのはpH5の0.02Mギ酸-アンモニア溶液で溶出される、280nmの吸収の弱い画分(E)であった。

季節別に採取した葉の、乾燥-熱水抽出液の抗菌活性を表5に示した。4月に採取した葉は水分含量が他の時期のものより高いが、抽出には乾燥粉末の一定量を使用しているため、抽出の出発材料は固形分基準ではほぼ同じである。表からわかるように、4月の葉が活性は最も高く、12月の葉は明らかに低かった。かからんだごは主として5月の節句に作られていたが、この時期のカカラの葉を使うことは保存性を高めるという観点からすると合理的であると言える。また、古くは葉ごと食べることも行われていたようで、そのような場合には秋や冬の葉は固くて不適であったであろう。

2. 家庭科および他の教科との関連

現在、高等学校では家庭科の科目として「家庭一般」、「生活技術」、「生活一般」の中のいずれか4単位が必修であり、家庭に関する学科では専門教育の基礎として「家庭一般」が必修とされている。

表4 イオン交換クロマトグラフィーによる画分の抗菌活性

画分	フラクションナンバー	増殖阻止帯の幅(mm) ^a
A	1~27	8.6
B	28~33	0
C	34~41	0
D	42~58	11.8
E	59~99	23.2
F	100~127	2.9
G	128~180	0

^a表1の注bに同じ。

表5 葉の採取時期と熱水抽出液^aの抗菌活性

葉の採取時期	増殖阻止帯の幅(mm) ^b
4月	6.5
8月	4.5
12月	1.7

^{a, b}表1の注と同じ。

