

狭山茶の新規機能性開発を目指した探索的研究(第2報) (温故知新プロジェクト)

著者	宮本 康司, 二川 正浩, 藤森 文啓, 池田 壽文, 吉原 富子, 井上 宮雄
雑誌名	東京家政大学生生活科学研究所研究報告
巻	38
ページ	85-92
発行年	2015-07
出版者	東京家政大学生生活科学研究所
URL	http://id.nii.ac.jp/1653/00009975/

《温故知新プロジェクト》

狭山茶の新規機能性開発を目指した探索的研究 (第2報)

宮本康司* 二川正浩* 藤森文啓*
池田壽文* 吉原富子* 井上宮雄**

Development of Novel Functional Property of Sayama Tea (2)

Koji MIYAMOTO, Masahiro FUTAGAWA, Fumihiko FUJIMORI,
Hisafumi IKEDA, Tomiko YOSHIHARA, and Miyao INOUE

1. 緒 言

狭山茶は埼玉県を代表する贈答用高級ブランド農産物であるが、農林水産省による平成25年度産の荒茶の作況調査結果によると生産量は全国第14位¹⁾であることもあり、全国的な知名度はあまり高くない。さらに、2011年3月に起こった福島原発事故により、放射性セシウムの暫定規制値である100 Bq/kgを超える放射線量が埼玉県産製茶から検出された²⁾ことによる風評被害も加わり、狭山茶の販売力の低下が懸念されている。

そこで本研究の目的は、大学と地域の連携事業に関する活動の一環として、狭山茶のブランドイメージ調査(意識調査)を行い、また狭山茶に含まれている機能性成分を有効活用できる方策を探索し(成分分析)、それらの狭山茶の特徴を組み入れたお茶に関する環境教育プログラムを開発(認知教育)することで、狭山茶のブランド力を上げ地域振興に貢献することを目的とする。

2. 研究アプローチ

本研究は意識調査、成分分析、認知教育の3つのブロックで構成して研究を進める。昨年度までの各ブロックにおける結果、および本年度の取り組みについてまとめると以下のとおりである。

1) 意識調査

昨年度は狭山茶の歴史、特徴、販促の実例などについて調査し、意識調査のための素案の作成を行った。本年度はそのアンケート調査を実施し、狭山茶のブランドを高めてその販売を伸ばす方策としてどのような取り組みが有効なのかを探る試みを行った。

2) 成分分析

お茶に含まれる代表的な機能性成分としてカテキン類等

が挙げられる。昨年度は市販されている八銘柄(静岡、伊勢、宇治、知覧、八女、土佐、村上、狭山)の製茶、および狭山茶の生茶葉とペーストを使い、それらに含まれているカテキン類とカフェイン含量を比較した結果、ペーストの場合に製茶抽出液と比べて高い結果が得られた。本年度は新たな試みとして後発酵茶としての狭山茶の活用について注目した。その予備調査として、代表的な後発酵茶であるプーアル茶に寄生する菌およびバクテリアの同定を行った。

3) 認知教育

体験型の環境学習プログラムは、子どもたちの「生きる力」に好影響を与えることが明らかにされている³⁾。そこで「親子」をターゲットに設定し、狭山茶の認知度向上に資する体験型環境学習プログラムの開発を目指す。昨年度は、茶園での環境学習プログラムを運営するのに必要な情報を得るため、日時、規模、プログラム内容等についてのニーズ調査アンケートを実施した。本年度はその結果を基に、少人数規模の茶摘みイベントを開催した結果について報告する。

3. 結果と考察

1) 狭山茶ブランドに関するアンケート調査(意識調査)

アンケートの設問項目は前報の表1を参照。調査は東京家政大学環境教育学科および造形表現学科の『特別活動の研究』(2年生対象の教職科目)を履修している83名を対象に実施した。

(1) 狭山茶の知名度について

まず狭山茶のブランドを高めてその販売を伸ばすことについて、狭山茶のブランドに関する知名度の調査を行った。その調査結果は以下のとおりである。

* 東京家政大学 (Tokyo Kasei University)

** Corresponding (inouem@tokyo-kasei.ac.jp)

①おいしいお茶として知られていることについて

		知っていた	知らなかった
全体		47.0%	53.0%
埼玉県出身者		75.0%	25.0%
埼玉県外	居住経験あり	0.0%	100.0%
	居住経験なし	30.0%	70.0%

②三大茶として知られていることについて

		聞いたことがある	聞いたことはない
全体		21.7%	78.3%
埼玉県出身者		30.6%	69.4%
埼玉県外	居住経験あり	14.3%	85.7%
	居住経験なし	15.0%	85.0%

この結果から、狭山茶が「おいしいお茶」という知名度は全体では47%と半数には及ばないものの、埼玉県出身者に限っては75%が知っているという数字となっている。一方、「三大茶」という知名度は、埼玉県出身者においても30.6%で、全体では21.7%という数字となっている。

以上より、狭山茶の商品価値を高める方策としては、ある程度一般化している「おいしいお茶」という知名度に、歴史的な裏づけを持つ「三大茶」というブランドを加えて、その知名度をさらに高めることが有効と考えられる。

その方策として、まずは埼玉県出身者の狭山茶への知名度をさらに高めていくことが考えられる。その具体的な方策の一つとして、小学校や中学校における地産地消という狭山茶の特色を生かした体験活動が考えられるが、次にその有効性についての検討を行うことにした。

(2) 学校での体験活動の有効性について

学校での体験学習は、社会科や理科、特別活動や総合的な学習の時間などで行われることが多いが、その体験活動の有効性についての調査結果は以下のとおりである。

① 学校が行う体験（実費）

有効	36.2%
やや有効	51.8%
あまり有効でない	9.6%
有効でない	1.2%
未記入	1.2%

② 企業が行う体験（有料）

有効	37.3%
やや有効	47.0%
あまり有効でない	14.5%
有効でない	0.0%
未記入	1.2%

この結果から、学校が行う体験活動（実費）の有効性については、88.0%が肯定的な回答をしている。この数字は企業が行う体験（有料）に対する肯定的な回答の84.3%と同程度の結果を示し、「生きる力」の育成で重視されている自然体験や社会体験などの体験活動の重要性が、教職

課程の学生にも認知されていると言える。

一方、狭山茶の特色を生かした体験活動として想定される農作業やものづくりの体験について、実際に学校で体験した活動の調査結果は以下のとおりである。

③ 農作業体験

ある	69.9%
ない	30.1%

④ ものづくり体験

ある	57.8%
ない	41.0%
未記入	1.2%

この調査結果から、農作業とものづくりの双方とも過半数を越える学生が体験ありと回答しているが、特に農作業体験では7割ちかい数字となっている。その農作業体験に関する自由記述では、サツマイモや米の栽培と収穫を行ったという回答が複数みられたが、小中学校では校庭や近くの農地、またはバケツやプランターなど利用した農作業体験が広く行われていることが調査結果から伺える。

また、学校での体験活動については、賛成80.7%、やや賛成16.9%、やや反対1.2%、反対0.0%、未記入1.2%という調査結果となっている。このことからアンケートに答えた学生が将来的に保護者となっても、学校における農作業やものづくりなどの体験活動に対する理解は十分に得られるものと予想される。その体験活動としてどのようなお茶に関する体験活動が学生に受け入れやすいのか。最後にいくつかの体験活動（プログラム）を例示してその検討を行うことにした。

(3) 体験活動（プログラム）への関心度について

お茶に関する体験活動（プログラム）としては、7つの体験活動を例示した。その関心度についての調査結果は以下のとおりである。

① お茶摘み

ある	39.8%
まあある	44.6%
あまりない	7.2%
ない	8.4%

② お茶づくり

ある	49.5%
まあある	37.3%
あまりない	6.0%
ない	7.2%

③ お茶の入れ方

ある	41.0%
まあある	36.1%
あまりない	13.3%
ない	9.6%

④ お茶請け（漬け物）

ある	39.7%
まあある	28.9%
あまりない	14.5%
ない	13.3%
未記入	3.6%

⑤お茶請け（郷土料理）

ある	42.3%
まあある	33.7%
あまりない	12.0%
ない	8.4%
未記入	3.6%

⑥お茶請け（和菓子）

ある	63.9%
まあある	25.3%
あまりない	7.2%
ない	3.6%

⑦お寺などでの茶道体験

ある	47.0%
まあある	31.4%
あまりない	12.0%
ない	9.6%

この調査結果を関心の高い体験活動（ある、まああると回答した体験活動）の順にならべると、和菓子（89.2%）→お茶づくり（86.8%）→お茶摘み（84.4%）→茶道体験（78.4%）→お茶の入れ方（77.1%）→郷土料理（76.0%）→漬物づくり（68.6%）となった。その結果からは、お茶づくりとお茶つみといったお茶に関する体験活動に80%以上の学生が関心を持っていることが明らかになった。また、その体験活動に付随するお茶請けづくりの体験活動としては、和菓子づくりへの関心が最も高いことが明らかになった。

このことから、学校における体験活動としては、学校周辺の地域と連携しながらお茶摘みとお茶づくりを体験し、そのお茶を飲みながら自分たちで作った和菓子を味わうといった体験活動（プログラム）が考えられる。また、他の体験活動についても、漬物づくりを除いておおむね75%以上の学生が関心を持っており、地域に伝わる郷土料理や茶道体験ができるお寺があるなどの地域の特性を生かした体験活動（プログラム）なども考えられる。

2) 後発酵茶に関与する微生物群（成分分析）

(1) はじめに

茶の歴史は古く、お茶の種類は加工方法の違いによって大きく三つに分類される。一つ目の緑茶は葉を摘み取ってからすぐに加熱することで、発酵しないようにして作られる。二つ目の紅茶は茶の葉に含まれているカテキンが酸化することで、酸化発酵が起り茶の葉を完全に発酵させて作られる。烏龍茶も紅茶と同様に酸化発酵を用いて作られるが、紅茶と異なり途中で発酵を止めている⁴⁾。これらのお茶には総じて、発酵過程で微生物は関与していない⁵⁾。三つ目の後発酵茶は上記二つのお茶とは異なり、製造工程のいずれかの段階で微生物が関与している。後発酵茶は好気性菌や嫌気性菌が増殖し、茶葉成分と相互作用を繰り返すことで、独特な風味を作り出す。好気的カビ発酵を用い

た中国のプーアル茶や富山県の黒茶、空気を必要としない嫌気的バクテリア発酵を用いて作られた徳島県の阿波番茶、好気的カビ発酵の後、嫌気的バクテリア発酵を行い、二段階の発酵を用いた高知県の碁石茶や石鏡黒茶などが知られている。後発酵茶に含まれるカテキン類は抗酸化作用があり、血糖値抑制作用、肝機能の向上など機能性食品としても注目されている⁶⁾。

後発酵茶の中でも、富山県の黒茶などはすでに菌群の同定が行われている。富山県の黒茶に関しては岡田らの研究では、茶葉に付着している菌は *Aspergills sp.* が大部分であるという報告がある。一方で、*Lactobacillus plantarum* が後発酵茶に共通していることを報告している。過去に報告された文献の多くは、日本の後発酵茶に関わるものばかりである。しかし、お茶の発祥の地である中国のプーアル茶、なかでも市販品のプーアル茶に関する菌群の研究が行われている報告はない⁷⁾。

そこで本研究では、狭山産茶葉へ応用することを見据え、市販されている後発酵茶であるプーアル茶から菌を単離、回収し同定することで、プーアル茶の発酵に必要な菌を特定することを目的とし、いくつかの糸状菌およびバクテリアを回収し同定したので報告する。

(2) 実験方法

(i) 材料および方法

プーアル茶4種は以下のものを用いた。

Sample 1

原材料名：普洱茶

原産国：中華人民共和国（販売者：株式会社アルファ 〒190-0033 東京都立川市一番町1-27-30）

Sample 2

原材料名：プーアル茶

原産国：中華人民共和国（生産者：株式会社三供堂漢方 〒101-004 東京都千代田区神田鍛冶町3-6）

Sample 3

原材料名：後発酵茶（プーアル茶）

原産国：中華人民共和国（加工者：輝盛號 横浜市中区山下町160番地）

Sample 4

原材料名：後発酵茶（プーアル茶）

原産国：中華人民共和国（販売者：株式会社孫悟空 TA 横浜市中区山下町80）

(ii) 糸状菌および細菌類の分離方法

糸状菌分離用培地は0.5%酵母エキス BSP-B、2%グルコース（和光純薬工業）に1.5%となるように寒天（AGAR-AGAR POWDER、ブルーマン BN）を加え、ローズベンガルを0.01%となるように加えたものを用いた。また細菌用分離培地は0.1%酵母エキス BSP-B、1%ポリペプチン（オリエンタル酵母）、0.5%スクロース、0.3% NaCl に寒天（AGAR-AGAR POWDER、ブルーマン BN）を加え、0.025%となるようにジクロランを加えて調整したものを用いた。

材料である茶葉を適宜希釈し、上述の分離用プレートに適宜植菌し、24℃恒温器で培養し、コロニー分離を行い単一クローンとして用いた。

(iii) ITS 領域のシーケンスによる同定方法

細菌・真菌ともに16Sまたは18S rRNA 直下に存在する ITS 領域を PCR により増幅し、ダイレクトシーケンス法によって配列決定を行った。すなわち細菌用プライマーとして、10F: 5'-GTTTG ATCCT GGCTC A-3'、800R: 5'-TACCA GGGTA TCTAA TCC-3' を用い、真菌用プライマーとして ITS1F: 5'-GTAAC AAGGT (T/C) TCCG T-3'、ITS1R: 5'-CGTTC TTCAT CGATG-3' を ITS 領域の増幅用プライマーとして用いた。PCR の条件は AmpliTaq Gold (FASMAC) を用い、0.2 mM dNTP、1.5 mM MgCl₂、それぞれ0.5 μM のプライマーに Taq polymerase を0.625U 用い25 μl の反応液に菌体を適宜加えて、94℃ 9 min、(96℃ 1 min, 58℃ 1 min, 72℃ 1 min) × 35 サイクル、72℃ 5 min、4℃ の条件で反応を行った。反応終了後、1.5% アガロースゲル電気泳動により ITS バンドの確認を行い、Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System を用いて PCR 産物の精製を行った。その後、同一プライマーを用い、Roche454シーケンサー（Genome Sequencer-FLX (GS-FLX)）を用いて配列決定を行った。得られた配列は NCBI（公共データベース）を用い Blast 解析により行った (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)。

3) 結果および考察

4種の市販茶葉より分離しクローン化した細菌と真菌の種類は表1に示すとおりである。市販茶葉の種類により合

表1 4種の茶葉からの分離菌株数

	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
細菌	45株	25株	16株	27株
真菌	5株	2株	1株	1株
合計	50株	27株	17株	28株

形態学上別株と判断したものの総数として表示。

計種数に違いがあるが、17株以上の分離が可能であった。

これら分離株はプレート上のコロニー性状や顕鏡下での形体的差異を指標に別株と判断して初期スクリーニングを実施した結果である。そこで各後発酵茶サンプルの分離株（細菌類）の ITS 領域のシーケンスにより同定を行ったところ表2から表5までに示す結果となった。

各サンプル共通に *Bacillus* 属の分離が多い。これは後

表2 Sample 1のシーケンスによる同定結果

No.	学名	適合率 (%)
AB1	未同定	
AB2	未同定	
AB3	未同定	
AB4	<i>Rhodococcus</i> sp. I11A-02682	100
AB5	<i>Rhodococcus kroppenstedtii</i> strain ICN23	100
AB6	<i>Micrococcus</i> sp. T2-1_4-3	100
AB7	<i>Curtobacterium citreum</i> AW21	98
AB8	未同定	
AB9	<i>Stenortophomonas</i> sp. AB1	100
AB10	<i>Klebsiella</i> sp. HGH0313	99
AB11	<i>Brevibacterium</i> sp. 10/17613	98
AB12	<i>Bacillus subtilis</i> NWU28	100
AB13	<i>Paenibacillus</i> sp. M11-2	100
AB14	<i>Bacillus subtilis</i> DDKRC5	100
AB15	<i>Lysinibacillus fusiformis</i> IHB B 6505	100
AB16	<i>Lysinibacillus fusiformis</i> IHB B 6505	100
AB17	未同定	
AB18	<i>Bacillus thuringiensis</i> HPCAQKh2-8c	100
AB19	<i>Bacillus subtilis</i> KPC (-8) 4	100
AB20	<i>Virgibacillus halophilus</i> 5B73C	99
AB21	<i>Bacillus subtilis</i> Szi4-15	100
AB22	<i>Aeromicrobium alkaliterrae</i> KSL-107	95
AB23	<i>Bacillus altitudinis</i> AB4	100
AB24	<i>Bacillus tequilensis</i> N3_2_4	100
AB25	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> BD18C2-S18	100
AB26	<i>Bacillus licheniformis</i> SCDB1234	100
AB27	<i>Bacillus aerophilus</i> Z3PI7	100
AB28	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CC178	99
AB29	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> H49	99
AB30	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> azg-23	100
AB31	<i>Bacillus cereus</i> H3	100
AB32	<i>Bacillus endophyticus</i> BTH#2	99
AB33	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CC178	100
AB34	未同定	
AB35	<i>Bacillus tequilensis</i> EGY-WCP11	99
AB36	<i>Bacillus cereus</i> SVK1	100
AB37	<i>Bacillus cereus</i> SVK1	99
AB38	<i>Bacillus cereus</i> N24-2	100
AB39	<i>Bacillus aryabhattai</i> KJS1	100
AB40	<i>Bacillus anthracis</i> W104	100
AB41	<i>Bacillus cereus</i> SVK1	100
AB42	<i>Bacillus oleronius</i> FHGXJ12-2	99
AB43	<i>Ochrobactrum haematophilum</i> HPG70	98
AB44	<i>Pseudomonas fluorescens</i> EXXP-1	99
AB45	<i>Paenibacillus taichungensis</i> JN1	100
AB46	<i>Bacillus megaterium</i> AU02	100

未同定：シーケンス不可サンプル

表3 Sample 2のシーケンスによる同定結果

No	学名	適合率 (%)
BB1	<i>Bacillus</i> sp. M-B	100
BB2	<i>Virgibacillus halophilus</i> strain 5B73C	99
BB3	<i>Burkholderia multivorans</i> strain DDS 15A-1	97
BB4	<i>Pseudoxanthomonas</i> sp. ZDM198	100
BB5	<i>Burkholderia multivorans</i> strain DDS 15A-1	96
BB6	<i>Curtobacterium luteum</i> SIGC1268	100
BB7	<i>Bacillus</i> sp. 212Cu-As	100
BB8	<i>Bacillus</i> sp. GutB2	100
BB9	<i>Bacillus</i> sp. NBRC 3967	*
BB10	<i>Paenibacillus barcinonensis</i> SW12	100
BB11	<i>Bacillus subtilis</i> SRF1.14	100
BB12	<i>Burkholderia multivorans</i> DDS 15A-1	100
BB13	<i>Burkholderia multivorans</i> DDS 15A-1	100
BB14	<i>Burkholderia multivorans</i> DDS 15A-1	100
BB15	<i>Burkholderia multivorans</i> DDS 15A-1	99
BB16	<i>Burkholderia multivorans</i> DDS 15A-1	*
BB17	<i>Bacillus shackletonii</i> Ka18	99
BB18	<i>Paenibacillus favisporus</i> C82	100
BB19	<i>Bacillus subtilis</i> 40-1-1	100
BB20	<i>Curtobacterium oceanosedimentum</i> EGY-WCJ2	100
BB21	<i>Bacillus anthracis</i> KB1.1	100
BB22	<i>Bacillus</i> sp. HSL68B	*
BB23	<i>Bacillus circulans</i> LB2	100
BB24	<i>Bacillus subtilis</i> 40-1	100
BB25	<i>Curtobacterium oceanosedimentum</i> B3083	99

* トップヒットにおいても相同性が低いもの

表4 Sample 3のシーケンスによる同定結果

No.	学名	適合率 (%)
CB1	<i>Pseudomonas putida</i> CCFM8388	99
CB2	<i>Oceanobacillus oncorhynchi</i> EH53	99
CB3	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> C5	100
CB4	<i>Bacillus cereus</i> BB613	100
CB5	<i>Bacillus licheniformis</i> B-25	94
CB6	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> August M2	100
CB7	<i>Bacillus subtilis</i> SRF1.14	100
CB8	<i>Bacillus subtilis</i> 89	100
CB9	<i>Bacillus cereus</i> EM10	100
CB10	<i>Ochrobactrum pseudintermedium</i>	100
CB11	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> August M2	100
CB12	<i>Bacillus anthracis</i> strain 101XG51	100
CB13	<i>Sphingomonas aquatilis</i> MY-CB41	100
CB14	<i>Bacillus subtilis</i> M64 (2010) strain M64	100
CB15	<i>Rummeliibacillus stabekisii</i> VITNJ7	100
CB16	<i>Bacillus subtilis</i> BVC23	100

発酵茶の製法によるところが大きいと思われる。後発酵茶の発酵前に行われる蒸気による蒸す工程では、茶葉に附着している細菌類の中でも耐熱性を示す *Bacillus* 属が多く生存しているという結果を示すものと思われた。同一属の *Bacillus* 属や他の属の菌種の中には同一株名に同定さ

表5 Sample 4のシーケンスによる同定結果

No.	学名	適合率 (%)
DB1	<i>Lysinibacillus macrolides</i> clone B8	99
DB2	<i>Bacillus firmus</i> strain 171544	99
DB3	<i>Dermacoccus</i> sp. F218T	*
DB4	<i>Dermacoccus nishinomiyaensis</i> strain IHB B 8011	100
DB5	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> strain M34 16S	100
DB6	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> strain H49	100
DB7	<i>Rummeliibacillus stabekisii</i> strain VIT-NJ7	100
DB8	<i>Rummeliibacillus stabekisii</i> strain VIT-NJ7	100
DB9	<i>Acinetobacter baumannii</i> strain LCR85	98
DB10	<i>Bacillus subtilis</i> strain KBM4	100
DB11	<i>Rhizobium cellulosilyticum</i> UT 6-08	100
DB12	<i>Rummeliibacillus stabekisii</i> strain VIT-NJ7	100
DB13	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> strain KB-82	100
DB14	<i>Bacillus subtilis</i> strain: 192-1	100
DB15	<i>Bacillus</i> sp. hb98	100
DB16	<i>Bacillus</i> sp. GutB2	99
DB17	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> strain GR53	100
DB18	<i>Bacillus subtilis</i> strain AFY2	100
DB19	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> strain EGY-SCN1	100
DB20	未同定	
DB21	未同定	
DB22	未同定	
DB23	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> strain GR53	99
DB24	未同定	
DB25	未同定	
DB26	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. natto BEST195	100
DB27	<i>Bacillus shackletonii</i> strain Ka18	99

未同定：シーケンス不可サンプル

* トップヒットにおいても相同性が低いもの

れているものが多々ある。例えば Sample 2 に存在する *Burkholderia multivorans* DDS 15A-1 などは、詳細なシーケンスデータの解析から、適合率が100の場合は同一種であっても適合率が99の場合は1塩基もしくは2塩基違いが存在し、そのような場合にはコロニーの性状にも差があることが認められるため、株の分離数に関する判定には詳細な検討が必要であると結論した。また、未同定となったサンプルの多くはシーケンス反応の失敗によるものであるが、template DNA の精製に不備があったのか、菌由来の酵素分解系夾雑物の混入によるもののためによる不備であるか、再度シーケンスによる決定を行う必要がある。また、Blast 解析によって属名や種名がトップヒットとして同定できているものであっても、適合率が著しく低い値を示している場合には (*) で表記した。すなわち、分離した菌のシーケンスは得られているが、公共データベースに存在しない新種の配列を持つ菌株の可能性はあるが、これ

らに関しては今後詳細な解析が必要である。

一方、糸状菌（真菌）は Sample 1からは5株、Sample 2からは2株、Sample 3, 4からは1株ずつ合計9株のみの分離であった（図1）。

すべての後発酵茶より *Aspergillus* 属菌が見いだされた。詳細な種の同定には至っていないが、顕鏡下による判別試験では *Aspergillus nigar* である可能性が高い。この菌種は茶の製造過程で混入したものであるのか、分離作業を行った実験室内からの混入であるのかを詳細に検討する必要がある。そのためには、ITS 領域以外の18S リボソーム配列などを決定し、もしも同一配列であれば分離作業中に混入した可能性が否定できないし、そうでない場合は *Aspergillus* 属菌の後発酵茶製造過程で優先的に発酵に用いられていた可能性が出てくるものである。

後発酵茶の発酵に本実験で同定された菌種がすべて関与したのか、単なる後発酵茶製造過程での混入であるのかを確定する必要があると考えている。特に糸状菌は孢子性の増殖形態をとる生物種であるために、慎重な考察が必要であると考えている。

狭山茶の微生物発酵による利用を目的に後発酵という茶の中に存在する菌群の同定結果を報告してきたが、同定された菌類は一般細菌、一般糸状菌として知られている、いわゆる一般浮遊菌でもある。しかも、それぞれの菌の多くは二次代謝物として特徴ある毒素化合物等の生産菌としても知られているものが多い。今後、これらの分離菌が二次

代謝物としてどのような化合物を生産する能力を有しているのかを詳細に検討することで、より安全な後発酵茶に用いる菌群を示すことが可能となるだろう。

3) 茶つみプログラムの実施およびアンケート調査（認知教育）

(1) はじめに

狭山茶ブランドに対する認知度向上を導く一助として、真に「生きる力」向上に資する環境学習プログラムを開発し、狭山において「親子」向けに開催することは有効と考えられる。都内から参加者を有償で募ることを想定した場合、運営に関する観点のニーズ調査がまず必要不可欠となるが、これまでの調査では、①最も興味ある内容は「茶つみの体験」であり次いで「製茶の体験」「自分が作ったお茶を飲む体験」であること、②小学生家庭では最も希望する時間帯は「日曜の午前中120分」であり「参加費については500円～1,000円」を希望すること、③未就学児家庭では最も希望する時間帯は「日曜の午前中90分」であり「参加費については無料」を希望すること、などが明らかになっている。

そこで、本稿では、これまでのニーズ調査に基づいた(1) 茶つみを盛り込んだ環境学習カリキュラム開発、(2) 茶つみプログラムに参加した保護者の意識、および、(3) 茶つみプログラムに参加した保護者と参加していない保護者の意識比較について報告する。

(2) 茶つみを盛り込んだ環境学習カリキュラム開発

対象者と、扱うことができる活動とを鑑みて、ESDで重視する7つの能力のうち「多面的総合的に考える力」「他者と協力する態度」「つながりを尊重する態度」を高めることを目指した。プログラムは、単に家族で茶つみと製茶と試飲の体験をするだけでなく、「チャは樹木（常緑樹）であること」「共同作業が必要であること」「茶農家は冬にも仕事があること」などを盛り込んだ内容とした。まとめ用の教材には、東京都北区環境大学事業において開発されている「絵本ノート」を用いた。

プログラムのタイムスケジュールを表6に示す。

(3) 茶つみプログラムに参加した保護者の意識

調査対象は、平成26年度に「茶つみプログラム」を受講した家庭の保護者とした。未就学児を持つ家庭12から回答を得た。

自由記述では、“家では体験できないことができ、その味をあじわえるというのは貴重なことだと思います”、“自分自身の実体験を伴っているので、単にテレビで見たあるいは本でよんだ、聞いたことよりも、くっきりと記憶に

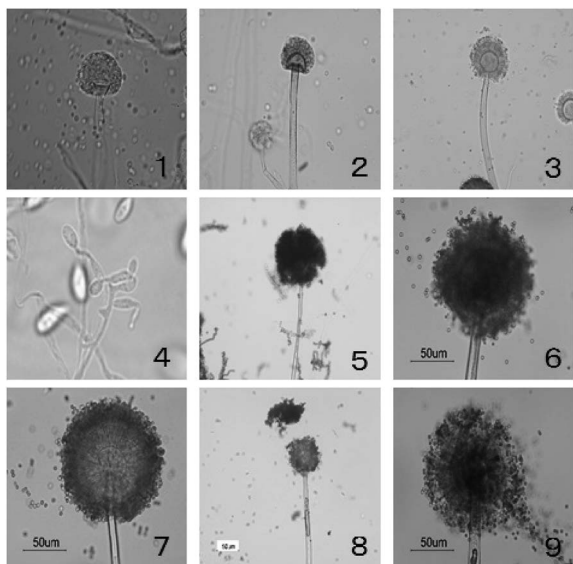


図1 分離糸状菌（真菌）

1から5は Sample 1より分離され、6および7は Sample 2より、8および9はそれぞれ Sample 3, Sample 4より1株ずつ分離された菌を示す。1, 2は *Mucorales* sp., 3, 5～9は *Aspergillus* sp., *Mucorales* sp., 4は *Beauveria* sp. であった。

表6 狭山における茶つみを中心とした環境学習プログラム

項目	内容
10:00 入間市博物館 受付前集合	
10:15 講師挨拶 講座内容説明 身支度	<ul style="list-style-type: none"> ・狭山茶についての説明 ・茶つみの仕方についての説明や注意事項
10:40 茶つみ 小休止	<ul style="list-style-type: none"> ・色が薄くて、やわらかく、新しい葉だけを選んでつむ ・葉を傷つけないように、やさしく葉と握手するようにつむ
11:20 製茶	<ul style="list-style-type: none"> ・全員がつんだ葉を集めて、体積と重さを確認 ・手もみと電子レンジによる加熱とを繰り返す ・チャの葉を電子レンジで加熱する度に、大きさ、色、におい、てざわりなどが変化していく様子を体感する
12:10 昼食	
12:40 製茶しあげ 試飲	<ul style="list-style-type: none"> ・「生葉」から「お茶っぱ」への量の変化を確認する
13:45 まとめ (絵本ノート「お茶ができるまで」作成)	<ul style="list-style-type: none"> ・チャ畑にあった大型扇風機の役割を考え、チャの葉を冬の霜から守るために人が空気を攪拌させていることを理解 ・木にはチャのように冬にも葉があるものと、サクラのように冬に葉を落とすものがあることを理解 ・栽培から製茶までが大変な仕事であることを理解
14:20 終了挨拶 解散	

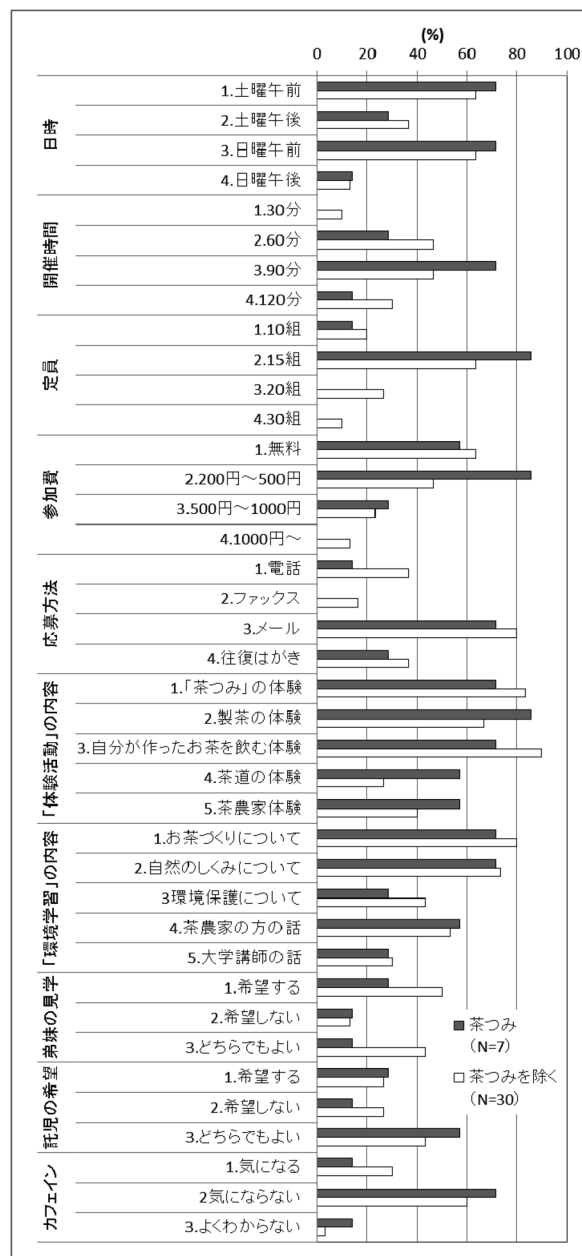


図2 茶つみプログラムに関するニーズ調査

残っていると思う”、“さまざまな面で、五感を刺激し、色々な自然との経験が将来、自分に与えてくれるものは大きいと思う”、といった「体験の重要性」に関するもの、“自分の口に入るまでに、どれだけの時間と手間をかけているかを実感し、自然の恵のありがたさを知ると思います”、といった「つながり」に関するもの、“身近なテーマを題材にして、科学に興味を持つきっかけになっていると思う”、“人の話を聞くということを身につけるのではないかと思います”といった「科学・思考」に関するものなど、プログラムに効力を感じている記述が多く見られた。

4) 茶つみプログラムに参加した保護者と参加していない保護者の意識比較

調査対象は、平成25年度と平成26年度に環境学習講座を受講した未就学児を持つ家庭とした。ニーズ調査アンケート用紙を送付し、茶つみプログラムに参加した家庭7、茶つみプログラム以外の環境講座に参加した家庭30から回答を得た。

図2に、ニーズ調査の結果を示す。

茶つみプログラム以外の環境講座に参加した家庭の保護者と比較して、茶つみプログラムに参加した家庭の保護者の回答に特徴的な点は「参加費は有料でもよい」、「プログラム時間は90分がよい」、「茶道の体験もあるとよい」と

考える保護者の割合が高い点であった。

4. おわりに

今年度は本プロジェクト3カ年計画の2年目に当たり、意識調査、認知教育のブロックでは初年度での結果を基に研究が進められた。成分分析では新たな取り組みとして後発酵茶としての活用を目指した取り組みを始め、引き続いて研究を進める。また、初年度ではカテキン類、カフェインについて報告したが、他の機能性成分についての分析も行う予定である。次年度は最終年度となるので、各ブロックにおいて成果のブラッシュアップを進め、それらの研究成果を連携させ、狭山茶ブランドの向上に資する汎用性の高い環境教育プログラムを提示する予定である。

謝 辞

本研究は東和食品研究振興会助成金の支援を得て、その一環として行われました。記して深甚の謝意を表します。また、糸状菌の同定はハイファジェネシス社の土屋有紀研究員および、細菌のシーケンス同定は東邦大学薬学部の安齋洋次郎教授にご協力いただきました。ここに感謝の意を

表します。

文 献

- 1) 農林水産省 HP：作況調査平成25年産茶生産量（主産県），http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/sakumotu/sakkyou_kome/index.html
- 2) 厚生労働省 HP：食品中の放射性物質の検査結果について（第178報），<http://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/2r985200001nq2o.html>
- 3) 独立行政法人国立青少年教育振興機構：子どもの体験活動の実態に関する調査研究報告書（2011）。
- 4) 宮川金二郎，大森正司，加藤みゆき，難波敦子：日本の後発酵茶—中国・東南アジアとの関連—。pp. 65–128, さんえい出版（1994）。
- 5) 社団法人農山漁村文化協会：茶大百科 I 歴史・文化／品質・機能性／品種／製茶。p. 948（2008）。
- 6) 衛藤英男，富田 勲，榛村純一，伊勢村 護，原 征彦，横越英彦，山本(前田)万里：新版 ヒト試験から分かった新たな役割 茶の機能。p. 592, 公益社団法人日本茶業中央会（2013）。
- 7) 岡田早苗，高橋尚人，小原直弘，内村 康，小崎道雄：茶の発酵に関与する微生物。日本産微生物発酵茶に関与する微生物（第2報）。日本食品科学工学会誌，**43**, 1019–1027（1996）。