

陕南地区高 EGCG 茶树资源筛选*

蒋 堃,肖 斌,余有本,冉隆贵,冯 雪,王 震,伍 丽

(西北农林科技大学 茶叶研究所,陕西杨凌 712100)

摘 要: 以陕南地区茶树种质资源圃中的 83 个品种为材料,采用高效液相色谱法测定茶叶中的 EGCG 含量,用 4 个生化指标对 28 个高 EGCG 茶树品种品质进行综合评价。结果表明,EGCG 含量为 6%~11%,平均含量 9.097%,高 EGCG 含量的茶树品种有 28 个。通过品质分析初步筛选出西乡大河 12 号、宜昌大叶种等高 EGCG 且品质优良的茶树品种。

关键词: 高 EGCG 茶;资源筛选;主成分分析;生化指标

中图分类号:S571.1 文献标识码:A 文章编号:1004-1389(2010)09-0193-05

Screening Specific Tea Plant Resources with High Epigallocatechin Gallate Content

JIANG Kun,XIAO Bin ,YU Youben,RAN Longgui,
FENG Xue,WANG Zhen and WU Li

(College of Horticulture,Northwest A&F University,Yangling Shaanxi 712100,China)

Abstract: By surveying 83 cultivars of tea plants from tea germplasm nursery in Shaanxi province,epigallocatechin gallate (EGCG) content of tea was measured by high performance liquid chromatography (HPLC). Synthetic quality evaluation of 28 tea cultivars was conducted with four biochemical characteristics,including caffeine content,free amino acid content,tea polyphenol content and water extract content. The result showed that the content of EGCG ranged from 6% to 11% . The average content was 9.097% and there are 28 cultivars of tea tree with high EGCG content. Based on the quality analysis of these 28 cultivars,22 cultivars with high EGCG and excellent quality were selected preliminary.
Key words: High EGCG tea; Resource screening; Principle component analysis; Biochemical factors

EGCG(表没食子儿茶素没食子酸酯,Epigallocatechin gallate)是茶叶中具有抗癌功效的核心成分^[1-2],是决定茶叶饮料品质好坏的关键因子之一^[3]。目前,EGCG 还不能人工合成,茶叶是 EGCG 唯一的来源^[3]。国内外对 EGCG 的研究主要集中在分离制备、水解氧化、药理功能等几个方面。唐课文^[4]研究探索出高纯度的 EGCG 沉淀一吸附制备法;孙智达^[5]探索出了高酯型儿茶素的茶多酚制备方法;程琦^[6]研究探明 EGCG 的水解反应和化学氧化反应机制;刘官树等^[7-10]研

究证实 EGCG 具有抗肿瘤、清除自由基、保护肾脏和肝脏、抗病毒、降压、降脂、降血糖、抗突变、抑制黑色素合成、抗白血病以及对日常的保健作用等功效。而前人对于茶树 EGCG 的遗传规律、资源筛选等方面的研究甚少。
高 EGCG 茶在国内外市场有着广阔的发展前景。高 EGCG 优质绿茶(EGCG 含量达到 10% 以上)的销售价格比普通绿茶高 30%,但目前国内市场上较少找到这样的产品,错失了大量的市场机遇。因此,本研究在前人研究的基础上,通过

* 收稿日期:2010-02-02 修回日期:2010-03-25
基金项目:国家茶叶产业技术体系项目资助(Z225020801)。
第一作者:蒋 堃,硕士研究生,主要从事茶树生理生化研究。E-mail:xiaokun118@126.com
通讯作者:肖 斌,教授,主要从事茶树生理生化研究。E-mail:XiaoBin2093@sohu.com

对陕西省不同茶树种质资源的研究,初步筛选出适于陕西省种植的高 EGCG 茶树,可作为茶树品质遗传改良的重要资源,也可作为从茶树鲜叶中直接提取 EGCG 的特异资源。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料取自陕西省西北农林科技大学茶叶示范基地种质资源圃。选取 83 个具有代表性的茶树品种作为试验材料,采摘标准为一芽二叶,采摘时间为 2009-04-15。

1.2 方法

1.2.1 固样方法 待铝锅中的水蒸气大量逸出时,投入茶青,平摊于蒸架上,加盖蒸 2.0~2.5 min,取出茶样,平摊于竹筛上凉干,移入碧螺春干燥机,120℃吹风,烘 6 min,置竹筛中摊凉 5 min,然后置烘干机 120℃烘至足干,保存备用。

1.2.2 试样制备 磨样→过 50 目筛→称量 0.50 g 置 50 mL 三角锥瓶中→加入 $\varphi=30\%$ 的乙醇 40 mL→置水浴锅微沸 30 min→过滤到 100 mL 容量瓶→冷却后定容→用微量注射器取 5 μL →色谱检测^[11]。

1.2.3 色谱分析 进样量 5 μL ;色谱柱 C18 150 mm×4.6 mm;流动相 V(甲醇):V(超纯水):V(乙酸)=26:73.5:0.5;检测波长 278 nm;柱温 35℃;流速 0.7 mL/min^[12]。

1.2.4 测定指标与方法 含水率的测定采用(105±2)℃烘干称量法^[13],茶多酚的测定采用酒石酸比色法^[13],水浸出物的测定采用国标 GB/T 8305-2002^[13],游离氨基酸总量的测定采用茚三酮比色法^[13],咖啡碱的测定采用高效液相色谱法^[13],EGCG 的测定采用高效液相色谱法^[12]。

1.2.5 数据统计分析 采用主成分分析、相关分析和用 Excel、SAS、SPSS 统计软件对原始数据进行分析。

2 结果与分析

2.1 茶树 EGCG 含量的品种间差异

茶树 EGCG 含量(即占茶叶干物质量的百分率)变异幅度很大。从陕西省种质资源圃收集到的 83 个品种来看(表 1),茶树 EGCG 含量为 6%~11%,EGCG 平均含量为 9.097%。在 83 个品种中,EGCG 含量最高的是 37(江西南州种),达到 13.017%。其次是 57(福鼎大白茶),EGCG 含量为 12.402%。含量最低的是 32(祁门楮叶种),其 EGCG 含量为 3.919%。83 个品种中,含量在 3%~5%的有 3 个,占 3.61%;含量在 5%~7%的有 8 个,占 9.64%,含量在 7%~9%的有 25 个,占 30.12%;含量为 9%~10%的有 19 个,占 22.89%;含量在 10%以上的茶树品种有 28 个,占 33.73%。

表 1 83 个茶树品种的 EGCG 含量

Table 1 The epigallocatechin gallate (EGCG) content in new shoots of 83 tea cultivars

编号 Code	样品名称 Cultivar	EGCG 含量 /% EGCG content	编号 Code	样品名称 Cultivar	EGCG 含量 /% EGCG content	编号 Code	样品名称 Cultivar	EGCG 含量 /% EGCG content
1	浙江木禾种	10.198	29	宜昌大叶种	10.394	57	福鼎大白茶	12.402
2	香菇白豪	9.564	30	大柳黄	8.979	58	福群 1 号	5.256
3	荣城	8.336	31	垂柳	7.998	59	福鼎群体	9.485
4	锡茶 10 号	9.719	32	祁门楮叶种	3.918	60	浙江紫笋	7.426
5	高桥早	7.031	33	休宁茗州茶	10.664	61	福安大白	9.743
6	鸠坑大叶种	9.939	34	祁门楮叶种	3.918	62	乐昌白毛茶 1	10.499
7	乌牛早	8.691	35	湄潭茗茶变种	8.077	63	广东乐昌白毛茶	10.691
8	安徽 7 号	6.764	36	青峰	7.339	64	西乡大河 7 号	10.526
9	黄山中叶	5.763	37	江西南州种	13.017	65	福鼎大毫	8.779
10	白毫早	8.711	38	彰科 1 号	8.846	66	西乡大河 12 号	10.413
11	浙江普陀佛茶	6.321	39	黄叶早	9.627	67	西乡大河 8 号	8.989
12	湄潭茗茶	8.581	40	浙农 12 号	9.061	68	浙农 139	6.223
13	劲峰	6.853	41	江西长霖大叶	9.824	69	西乡大河 6 号	11.807

(续表 1)

编号 Code	样品名称 Cultivar	EGCG 含量 /% EGCG content	编号 Code	样品名称 Cultivar	EGCG 含量 /% EGCG content	编号 Code	样品名称 Cultivar	EGCG 含量 /% EGCG content
14	黔湄 303	9.164	42	太平柿大茶	10.378	70	西乡大河种	9.959
15	迎霜	7.337	43	蜀永 906 号	6.242	71	西乡大河 5 号	11.554
16	水谷	9.080	44	早白尖 5 号	9.599	72	甘肃大茶树	9.820
17	黔湄 601	10.480	45	南江 1 号	11.101	73	西乡大河 10 号	10.739
18	云台山大叶种	11.492	46	南江 4 号	8.1899	74	南郑碑坝 6 号	8.698
19	湄潭茗茶	11.391	47	崇庆枇杷种	10.361	75	西乡大河 4 号	11.329
20	劲峰 1 号	9.290	48	贵州大牛皮茶	10.630	76	南郑碑坝 5 号	9.253
21	楮叶种	7.874	49	牛皮茶群体	11.901	77	西乡大河 1 号	9.777
22	迎霜	10.705	50	南江群体	8.158	78	南郑碑坝 2 号	8.989
23	大柳黄群种	8.932	51	杂优 73227	12.285	79	平利三阳种	9.449
24	水谷	4.669	52	杂优 79118	10.365	80	岚皋柳叶种	4.854
25	湖南大尖叶	10.519	53	日本薮北种	11.152	81	岚皋大叶泡	7.513
26	龙井长叶	8.268	54	浙农 113	7.579	82	紫阳大叶泡	8.752
27	恩师大茶树	9.053	55	浙农 117	8.990	83	紫阳群体	9.398
28	碧云	6.083	56	铁观音	10.711			
平均 Average							9.096	
最高 Maximum							13.016(No. 37)	
最低 Minimum							3.918(No. 32)	

表 2 高 EGCG 茶树品种的 4 个品质评价指标

Table 2 Data of 4 biochemical factors in high EGCG tea cultivars

样品编号 Code	咖啡碱含量/% Caffeine content	游离氨基酸含量/% Free amino acid content	茶多酚含量/% Tea polyphenol content	水浸出物含量/% Water extract content
1	4.78	2.38	30.911	51.76
17	4.9	1.44	23.449	47.54
18	5.32	1.92	33.908	50.94
19	5.47	1.98	32.854	50.18
22	4.71	1.97	33.154	47.09
25	5.08	1.87	32.738	49.33
29	5.8	2.01	31.533	46.57
33	5.29	2.25	23.789	47.60
34	4.65	2.23	35.302	50.34
37	5.45	1.63	36.167	32.60
42	4.46	1.73	33.98	29.63
45	5.85	1.56	26.33	35.76
47	4.95	2.03	32.60	38.23
48	5.22	1.10	29.63	32.98
49	5.09	1.45	35.76	33.13
51	5.32	1.64	38.23	32.04
52	3.63	1.36	32.98	31.86
53	5.1	1.64	33.13	21.73
56	4.05	1.49	32.04	32.74
57	4.76	1.68	31.86	29.27
62	5.5	2.09	21.73	31.07
63	5.31	1.78	32.74	31.85
64	4.81	1.69	29.27	33.67
66	5.22	1.26	31.07	35.28
69	4.33	2.15	31.85	33.55
71	4.37	1.36	33.67	
73	5.44	1.57	35.28	
75	4.87	2.38	33.55	

2.2 高 EGCG 茶树种质资源品质分析

对 28 个高 EGCG 茶树种质资源进行生理生化指标测定(表 2),分别测定咖啡碱含量,氨基酸含量,茶多酚含量和水浸出物含量。

2.2.1 高 EGCG 茶树种质资源的茶多酚含量

茶多酚在茶汤中含量最高,是茶汤滋味浓度和汤色的决定因素,茶多酚含量在 20%~24%时适制绿茶^[19],含量在 30%以上的适制红茶。如表 2 所示,在 28 个高 EGCG 茶树种质资源中,茶多酚含量大多集中在 29%~38%。平均含量为 31.45%。含量在 30%以上的有 22 个品种,含量在 25%~30%的有 3 个品种,其中含量在 21%~25%的有 3 个品种,分别为 17(黔湄 601)、33(休宁茗州茶)和 62(广东乐昌白毛茶)。

2.2.2 高 EGCG 茶树种质资源的游离氨基酸含量

氨基酸是构成茶汤鲜爽滋味的主体成分,绿茶中的氨基酸含量与品质呈显著正相关^[18]。氨基酸含量大于 3.5%绿茶鲜爽度较高^[19]。氨基酸含量在 2.5%以下适制红茶,且品质优。如表 2 所示,28 个高 EGCG 茶树种质资源中,游离氨基酸含量在 1.1%~2.3%,平均含量为 1.78%。

2.2.3 高 EGCG 茶树种质资源的咖啡碱含量

咖啡碱是构成茶汤滋味的重要物质,也是茶叶中主要的药理活性成分。茶叶咖啡碱含量与品质之间呈正相关。在 28 个高 EGCG 茶树种质资源中,咖啡碱含量在 3.6%~5.8%,其中含量最高的是 45(南江 1 号),含量最低的是 52(杂优 79118)。其中含量大于 4%的品种有 27 个。占高 EGCG 茶树种质资源的 96.4%。这主要是因为产于高纬度的北方茶区,年平均温度较低,有利于咖啡碱等含氮物质的积累。

2.2.4 高 EGCG 茶树种质资源的水浸出物含量

水浸出物含量在一定程度上反映了内含成分的多寡,反映茶汤的厚薄和浓淡,与绿茶品质呈正相关^[18]。如表 2 所示,在 28 个高 EGCG 茶树种质资源中,水浸出物的含量大多集中在 46%~50%,平均含量为 47.76%。含量小于 47%的品种有 7 个,占高 EGCG 茶树种质资源的 25%,含量大于 47%的品种有 21 个。其中 49(牛皮茶群体)含量最高,达到 52.46%。

3 讨论与结论

3.1 茶树品种间 EGCG 的差异

国内外高 EGCG 茶树品种筛选的研究较少。

张瑜^[14]研究表明茶树品种 EGCG 含量的不同是茶叶 EGCG 含量高低的主要影响因素。据资料报道,不同茶树品种,其新梢 EGCG 含量差异很大,为 6%~13%,即品种间差异可达 2 倍以上^[15]。林金科^[16]以福建省茶树品种园 45 份较有希望的品种或株系为试验材料,利用等度高效液相色谱法,筛选高 EGCG 的茶树特异资源。结果表明:新梢 EGCG 含量在不同品种、株系间差异很大。本研究对陕西省种质资源圃的 83 个品种的 EGCG 含量进行了测定,结果表明 83 个茶树品种中的 EGCG 的含量差异明显,EGCG 含量高的可达到 13%,含量低的仅为 3.91%。这与林金科^[16]的研究一致。湖南茶叶研究所的郑红发^[17]研究分析了全国主栽的 39 份茶树种,发现其 EGCG 含量为 5.0%~9.8%,因此,未从这些主栽的品种中筛选出高 EGCG 品种。提出筛选高 EGCG 茶树资源只能从其他特异的地方资源入手的结论。本研究中 EGCG 含量大部分在 6%~11%,从中筛选出高 EGCG 的茶树品种 28 个。这 28 个高 EGCG 茶树种中部分为非主栽品种,如日本薮北种,但还有部分品种为主栽品种,如南江 1 号、福鼎大白茶等,这与郑红发^[17]的研究结论并非一致。茶树中 EGCG 含量的高低与采摘季节、采摘部位、海拔、生长环境、品种等因素有密切的联系。地理环境等的变化可能会导致同一品种 EGCG 含量的不同。

3.2 高 EGCG 茶树资源标准的选择

茶树新梢 EGCG 含量需高达多少,才视为高 EGCG 的特异资源。林金科^[16]以茶多酚含量高于 34%者,视为超常规水平的品种或株系,EGCG 含量一般占茶多酚总量的 40%为依据,视 EGCG 高于 13%者为超常规水平的品种或株系。郑红发^[17]根据国外市场需求,视 EGCG 高于 10%者为高 EGCG 茶树种。为适应市场需求,本研究采用 EGCG 高于 10%视为高 EGCG 茶树种为标准。

3.3 茶叶内含成分对品质的影响

茶叶品质因素的形成基础是茶叶的化学成分含量及其比例关系。茶树品种不同,其内含生化成分各有差异。茶多酚含量达 30%以上,氨基酸含量在 2.5%以下的品种制作的红茶品质浓、强、鲜爽;氨基酸含量在 3.5%以上,茶多酚含量在 25%以下的品种制作绿茶品质鲜甜爽口^[20]。本研究筛选的 28 个高 EGCG 茶树种质资源中,茶

多酚含量在 21%~25%的茶树种质资源有 3 个品种,含量大于 30%的有 22 个品种,但是氨基酸含量均小于 2.5%。所以筛选的 28 个品种中有 22 品种适合制红茶,且品质优,分别为西乡大河 12 号、宜昌大叶种、西乡大河 6 号、福鼎大白茶、铁观音、重庆枇杷种、湖南大尖叶、湄潭茗茶、杂优 79118、日本北种、迎霜、西乡大河 4 号、西乡大河 5 号、云台山大叶种、太平柿大茶、西乡大河 10 号、翠峰、牛皮茶群体、江西宁州种、杂优 73227。高 EGCG 茶树种质资源中咖啡碱和水浸出物的含量也相对较高。通过对陕西省茶树种质资源圃 83 个品种的测定,对高 EGCG 茶树品种品质进行综合评价,初步得出西乡大河 12 号、宜昌大叶种等 22 个高 EGCG 茶树品种品质优良,为茶树遗传育种提供有利资源。

参考文献:

[1] Jankun J, Selman S H, Swiercz R. Why drinking green tea could prevent cancer[J]. Nature , 1997, 387(6633): 561.

[2] 张星海,唐德松,沈生荣. EGCG 防癌抗癌的药理药效研究进展[J]. 茶叶,2001,27(4):43-48.

[3] 浙江农业大学. 茶树栽培学(第二版)[M]. 北京: 中国农业出版社,1996:92-101.

[4] 唐课文,周春山, 蒋新宇. 沉淀吸附法制备高酯型儿茶素[J]. 中南工业大学学报,2002,33(3):247-249.

[5] 孙智达,谢笔钧. 高酯型儿茶素的茶多酚制备方法的研究[J]. 华中农业大学学报,1995 ,14(5): 495-503.

[6] 程 琦,程启坤,李名君. 单宁酶的固定化及其在酯型儿茶

素水解反应中的应用[J]. 生物化学杂志,1996 ,12(4) : 423-426 .

[7] 刘官树,姚思德. EGCG 辐射保护作用的研究[J]. 辐射研究与辐射工艺学报,2002,20(2): 87-92.

[8] 杨贤强,侯军武. 表没食子儿茶素没食子酸酯对活性自由基的清除作用机制[J]. 中国药理学报,1994,15(4):350-353.

[9] 沈荣生,金超芳,杨贤强,等. EGCG 和 GCG 清除单线态氧效果的 ESR 鉴别[J]. 茶叶科学,2000,20(1):19-22.

[10] 梁 纲,符麟军. 表没食子没食子酸酯抗突变的实验研究[J]. 广西预防医学,2000,8(6):201-203.

[11] 严明潮,徐向群,单夏锋. 提取条件对茶多酚制品儿茶素组成的影响[J]. 茶叶科学,1996,16(2):155-156.

[12] 李 楠,张建华. 茶叶饮料中 EGCG 的反相高效液相色谱定量测定[J]. 大连理工大学学报,1998,38(7):123-124.

[13] 钟 萝. 茶叶品质理化分析[M]. 上海:上海科学技术出版社,1989:258-446.

[14] 张 瑜,邹国林,彭少君. 表没食子儿茶素没食子酸酯研究进展[J]. 氨基酸与生物资源,1998,20(4):51-54.

[15] 王泽农. 茶叶生物化学(第二版)[M]. 北京:中国农业出版社,1994:1-121.

[16] 林金科,陈荣冰,陈常颂,等. 高酯型儿茶素含量的茶树资源筛选研究[J]. 茶叶科学,2005,25(1):30-36.

[17] 郑红发,黄亚辉,黄怀生,等. 高 EGCG 茶资源筛选及适制地域研究[J]. 福建茶叶, 2007(2):16-18.

[18] 陆锦时,魏芳华,李春华. 茶树品种主要化学成份与品质关系的研究[J]. 西南农业学报,1994(7):1-5.

[19] 郭桂义,胡孔峰,袁 丁. 信阳毛尖茶的化学成分研究[J]. 食品工业科技,2006,28(12):162-164,167.

[20] 覃秀菊,陈新强,诸葛天秋,等. 茶树良种与茶叶品质的关系及对策[J]. 广西农学报,2006,21(5):40-42.