

台灣地區高甲基化兒茶素茶樹種篩選及其種質資源歧異度研究

張捷、李世傑

E-mail: 322148@mail.dyu.edu.tw

摘要

本實驗利用茶葉改良場所保存的台灣地區茶樹品種為材料，分春、秋兩個季節採收後製備為綠茶為茶樣，以HPLC定量茶葉中的10種兒茶素含量，篩選出含高甲基化兒茶素含量的品種。同時也根據茶種兒茶素含量及分布的數據資料，進行主成份分析及依據UPGMA的群聚分析，以探討不同茶種兒茶素成分對品種、採收季節和適製性等農藝性狀關聯性的探討。此外，也探討了台茶育成種在不同時期選種時茶種在兒茶素分佈與含量的特徵，以及所試驗全部茶種基因歧異度的變化。實驗結果顯示，秋季茶種所測得的各個兒茶素的含量除了EGCG外均高於春茶；而台茶一號到台茶二十號的育成種，在EGCG及總兒茶素相較於其他茶種有較高的含量；適製部分發酵茶品種則在甲基化兒茶素部分測得有較高的含量。TD004（台茶四號）總甲基化兒茶素之春、秋茶兩季平均含量達3.3（g/100g d.w.），其中EGCG3” Me含量最高的品種是編號TD064（晚種），兩季平均最高含量達1.6（g/100g d.w.）。使用MVSP軟體以UPGMA方法計算，對茶種做群聚分析，分群結果顯示TD007、TD085、TD093、TD100，游離型兒茶素高於酯型兒茶素，分群位置明顯異於其他茶種。而主成份分析結果則指出茶種的適製性、育成種的篩選時期與茶種的兒茶素含量分佈有關連性；山茶品種依照茶種的來源地區在兒茶素含量分佈上有明顯的獨立分群。本實驗結果除可建立茶樹的種質資源資料庫並可提供未來選植育種的參考。

關鍵詞：兒茶素、甲基化兒茶素、種質資源、主成份分析

目錄

目錄封面內頁 簽名頁 授權書 iii 中文摘要 iv 英文摘要 vi 誌謝 vii 目錄 viii 圖目錄 x 表目錄 xi
1. 前言 12
2. 文獻回顧 22
2.1 茶葉簡史 22
2.1.1 茶樹在生物學上的分類 22
2.1.2 茶葉的種類 22
2.1.3 台灣茶樹簡史 22
2.2 茶葉化學成分介紹 42
2.2.1 多酚類 62
2.2.2 茶葉抗過敏機能性成分EGCG3” Me 62
2.2.3 植物鹼 102
2.2.4 蛋白質與游離胺基酸 132
2.2.5 其他 133
3. 材料與方法 153
3.1 材料與儀器 153
3.1.1 實驗材料 153
3.1.2 實驗藥品 153
3.1.3 儀器設備 173
3.2 研究方法 183
3.2.1 兒茶素測定 183
3.2.2 茶樹種原兒茶素及葉部性狀之分析 184
4. 結果與討論 184
4.1 台灣茶優良品系及高甲基型兒茶素茶樹品種之篩選 204
4.1.1 茶葉葉片中兒茶素的HPLC分析與定量 204
4.1.2 台灣茶種間兒茶素含量差異和季節性變化析 204
4.2 兒茶素含量與茶樹品種基因歧異度的分析探討 504
4.2.1 相關性分析 504
4.2.2 台灣茶樹種原葉部性狀分析 544
4.2.3 茶樹品種間兒茶素變異的多變數分析 594
4.2.4 兒茶素為因子探討春秋兩季茶種主成份變化 604
4.2.5 探討適製部分發酵茶茶種的主成份分析 684
4.2.6 台茶茶種主成份分析探討 684
4.2.7 以兒茶素做主成份分析探討山茶 734
4.2.8 以兒茶素含量差異進行茶種之群聚分析 745
5. 結論 77
參考文獻 79
圖目錄
圖2.1 兒茶素結構圖 9
圖2.2 甲基化兒茶素結構圖 11
圖2.3 甲基化兒茶素和咖啡因結構圖 12
圖4.1 (-)-Gallocatechin (GC) 和caffeine之檢量線 21
圖4.2 (-)-Epigallocatechin gallate (EGCG) 和(-)-Epigallocatechin (EGC) 之檢量線 22
圖4.3 (-)-Catechin (C) 和(-)-Epicatechin (EC) 之檢量線 23
圖4.4 (-)-Epicatechin gallate (ECG) 之檢量線 24
圖4.5 兒茶素、咖啡因和甲基化兒茶素HPLC圖譜 25
圖4.6 茶種季節和適製性平均數值圖 63
圖4.7 春秋兩季台灣主要茶種主成分散佈圖 64
圖4.8 春季茶種適製性散佈圖 66
圖4.9 秋季茶種適製性散佈圖 67
圖4.10 適製部分發酵茶種適製性之散佈圖 69
圖4.11 台茶品種春秋兩季主成分分佈散佈圖 70
圖4.12 山茶品種春秋兩季主成分散佈圖 71
圖4.13 根據兒茶素對春季茶種做UPGMA群聚分析圖 75
圖4.14 根據兒茶素對秋季茶種做UPGMA群聚分析圖 76
表目錄
表2.1 茶葉的分類及製法 3
表2.2 台灣茶業改良場培育的茶種及其型態特徵表 5
表2.3 茶一般成份分析 7
表2.4 茶菁之化學成份組成 8
表2.5 茶葉中各種礦物質含量 14
表3.1 113種種植茶種名單 16
表4.1 春秋兩季茶種中茶葉兒茶素含量分佈情形 28
表4.2-a 不同茶樹品種春季兒茶素與咖啡因含量範圍 29
表4.2-b 不同茶樹品種秋季兒茶素與咖啡因含量範圍 30
表4.2-c 不同茶樹品種春、秋兩季茶葉中平均兒茶素與咖啡因含量範圍 31
表4.3-a 台茶品種春季茶葉中兒茶素與咖啡因含量範圍 32
表4.3-b 台茶品種秋季茶葉中兒茶素與咖啡因含量範圍 33
表4.3-c 台茶品種春、秋兩季茶葉中平均兒茶素與咖啡因含量範圍 34
表4.4-a 部分發酵茶茶種春季兒茶素與咖啡因含量範圍 35
表4.4-b 部分發酵茶茶種秋季兒茶素與咖啡因含量範圍 36
表4.4-c 部分發酵茶茶種春、秋兩季平均兒茶素與咖啡因含量範圍 37
表4.5-a 綠茶茶種春季兒茶素與咖啡因含量範圍 38
表4.5-b 綠茶茶種秋季兒茶素與咖啡因含量範圍 39
表4.5-c 綠茶茶種春、秋兩季平均兒茶素與咖啡因含量範圍 40
表4.6-a 紅茶茶種春季兒茶素與咖啡因含量範圍 41
表4.6-b 紅茶茶種秋季兒茶素與咖啡因含量範圍 42
表4.6-c 紅茶茶種春、秋兩季平均兒茶素與咖啡因含量範圍 43
表4.7-a 山茶茶種春季兒茶素與咖啡因含量範圍 44
表4.7-b 山茶茶種秋季平均兒茶素與咖啡因含量範圍 45
表4.7-c 山茶茶種春、秋兩季平均兒茶素與咖啡因含量範圍 46
表4.8 春季茶種兒茶素、咖啡因間含量之相關性 52
表4.9 秋季茶種兒茶素、咖啡因間含量之相關性 53
表4.10 兒茶素、咖啡因和茶樹性狀之相關性 55
表4.10 兒茶素、咖啡因和茶樹性狀之相關性 (續) 56
表4.10 兒茶素、咖啡因和茶樹性狀之相關性 (續) 57
表4.11 台灣主要茶種15項化學成分之主成

分分析特徵向量 61 表4.12 不同茶種15項化學成分對季節和適製性的多變量檢定 62 表4.13 主成分PC1和PC2對季節和適製性的多變量檢定 62

參考文獻

- 1.史樞、陳永盛、楊宗國、石振原、廖增祿。1972。台灣野生茶之調查。台灣農業 8 (4) :199-201。2.李臺強、張清寬。2003。台灣茶樹種原圖誌-建廠100週年紀念特刊。第1-202頁。行政院農委會茶葉改良場編印。台北,台灣。3.甘子能。1983。近二十年來茶葉化學的研究發展。食品工業15 (10) :23-27。4.甘子能。1985。製茶原理的生化觀。食品工業17 (7) :25-37。5.何信鳳、王兩全、陳月理。1997。臺灣省紅茶新品種登記命名資料報告。茶改場魚池分場印行。南投,台灣。6.吳振鐸。1973。從茶湯之化學成分談台灣茶葉品質之改進問題。台灣農業季刊。9 (1) :194-198。7.呂海鵬、譚俊峰、林智。2006。茶樹種質資源EGCG³Me含量及其變化規律研究。茶葉科學26 (4) :310-314。8.汪毅。2006。茶葉中甲基化EGCG的調查研究:34。西南大學碩士論文。重慶,中國。9.阮逸明、陳英玲。1998。茶葉中兒茶素類萃取及純化之研究。台灣茶葉研究彙報17:1-8。10.阮逸明。1996。臺灣省茶業改良場場誌。第130-164頁。台灣省茶業改良場編印。桃園,台灣。11.林木連、蔡右任、張清寬等著。2003。台灣的茶葉。第23-25頁。行政院農委會茶業改良場。台北,台灣。12.胡家儉、黃慶發、余贊粉。1952。第一次育成及第四次選擇新品種比較試驗報告。農林通訊3 (12) :1-24。13.胡智益。2004。台灣茶樹種原葉部性狀及DNA序列變異之探討。台灣大學碩士論文。台北,台灣。14.徐英祥編譯。1995。臺灣之茶樹品種。臺灣日據時期茶業文獻編譯。第1-25頁。臺灣省茶業改良場編印。桃園,台灣。15.徐英祥、阮逸明。1993。臺灣茶樹育種回顧。臺灣茶業研究彙報12:1-18。16.區少梅、蔡永生、張如華。1988。包種茶酚類化合物分析方法之比較與評估。台灣茶業研究彙報7:43-61。17.張如華、阮逸明、蔡永生。1995。茶葉主要化學成分於製茶過程中之變化及其對品質之影響。農特產品加工研討會專刊:120-148。18.陳右人。1998。茶樹品種與育種介紹。茶葉技術推廣手冊茶作篇。第7-14頁。臺灣省茶業改良場編印。桃園,台灣。19.劉士綸、蔡永生、區少梅。2008。台灣高山茶之化學特性與等級之鑑別。台灣農業化學與食品科學46 (2) :70-77。20.蔡俊明、張清寬、陳右人、陳國任、蔡右任、邱垂豐、林金池、范宏杰。2004。2004 年度命名茶樹新品種臺茶19 號及臺茶20 號試驗報告。台灣茶業研究彙報 23:57-78。21.賴正南編譯。1990。茶業技術推廣手冊製茶技術。第22-45頁行政院農業委員會茶葉改良場編印。桃園,台灣。22.Astrid Nehlig., Daval Jean-Luc., G?臆ard Debry. 1992. Caffeine and the central nervous system: mechanisms of action, biochemical, metabolic and psychostimulant effects. Brain Research Reviews 17 (2) :139-170。23.Cao, G., Sofic, E., Prior, R. 1996. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. J Agric Food Chem 44:3426 – 3431。24.Carmen Cabrera., Reyes Artacho., Rafael Gime nez. 2006. Beneficial Effects of Green Tea —A Review. Journal of the American College of Nutrition. 25 (2) :79 – 99。25.Chiu Feng-Lan., Lin Jen-Kun. 2005. HPLC Analysis of Naturally Occurring Methylated Catechins, 3'' - and 4'' - Methyl-epigallocatechin Gallate, in Various Fresh Tea Leaves and Commercial Teas and Their Potent Inhibitory Effects on Inducible Nitric Oxide Synthase in Macrophages, J. Agric. Food Chem. 53: 7035-7042。26.Chung, F. L., Schwartz, J., Herzog, C. R., Yang, Y. M. 2003. Tea and cancer prevention: Studies in animals and humans. J Nutr 133:3268 – 3274。27.Fujimura Yoshinori., Umeda Daisuke., Yamada Koji., Tachibana Hirofumi. 2008. The impact of the 67 kDa laminin receptor on both cell-surface binding and anti-allergic action of tea catechins. Archives of Biochemistry and Biophysics Volume 476 (2) :133-138。28.Gerats, A. M., Martin, C. 1992. Flavanoid synthesis in *Petunia hybrida*: genetics and molecular biology of flower colour. Phenolic Metabolism in Plants 167 – 175。29.Hodgson, J.M., Devine, A., Puddey, I.B., Chan, S.Y., Beilin, L.J., Prince, R. L. 2003. Tea intake is inversely related to blood pressure in older women. J Nutr 133:2883 – 2886。30.Hirasawa M., Takada K. 2004. Multiple effects of green tea catechin on the antifungal activity of antimycotics against *Candida albicans*. J Antimicrob Chemother 53:225 – 229。31.Kim, J. H., Kang, B. H., Jeong, J. M., 2003. Antioxidant antimutagenic and chemopreventive activities of a phyto-extract mixture derived from various vegetables fruits and oriental herbs. Food Sci Biotechnol 12:631 – 638。32.Lambert, J. D., Yang, C.S. 2003. Mechanisms of cancer prevention by tea constituents. J Nutr 133:3262 – 3267。33.Lee Shin-Chieh., Yan Rui-Hong., Cheng Hun-Yuan., Wu Sang-Shung., Liu Shu-Ying. 2009. Screen and Genetic Assessment of Tea Germplasms with Elevated Methylated Catechin, (-)-Epigallocatechin-3-O-(3-Omethyl)gallate. Food Chem 57 (19) :8906 – 8912。34.Magoma, G. N., Wachira, F. N., Obanda, M., Imbuga, M., Agong, S. G.. 2000. The use of catechins as biochemical markers in diversity studies of tea (*Camellia sinensis*) . Genetic Resources and Crop Evolution 47:107-114。35.Millin, D. J. and Rustidge, D. W. 1967. Tea manufacture. Process Biochem. 6:9-13。36.Mittal, A., Pate, M. S., Wylie, R. C. 2004. EGCG down regulates telomerase in human breast carcinoma MCF-7 cells, leading to suppression of cell viability and induction of apoptosis. Int J Oncol 24:703 – 710。37.Negishi, H., Xu, J. W., Ikeda, K., Njelekela, M., Nara, Y., Yamory, Y. 2004. Black and green tea polyphenols attenuate blood pressure increases in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. J Nutr 134:38 – 42。38.Raederstoff, D. G., Schlachter, M. F., Elste, V., Weber, P. 2003. Effect of EGCG on lipid absorption and plasma lipid levels in rats. J Nutr Biochem 14:326 – 332。39.Sanjay Gupta., Kedar Hastak., Nihal Ahmad., Jonathan S. Lewin., Hasan Mukhtar. 2001. Inhibition of prostate carcinogenesis in TRAMP mice by oral infusion of green tea polyphenols. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98:10350-10355。40.Sano Mitsuaki., Suzuki Masazumi., Miyase Toshio., Yoshino Kyoji., Mari Maeda-Yamamoto. 1999. Novel Antiallergic Catechin Derivatives Isolated from Oolong Tea. J. Agric. Food Chem. 47:1906-1910。41.Saravanan, M., Maria John, K. M., Raj Kumar, R., Pius, P.K., Sasikumar, R. 2004. Genetic diversity of UPASI tea clones (*Camellia sinensis* (L.) O.Kuntze) on the basis of total catechins and their fractions. Phytochemistry 66:561 – 565。42.Takabayashi, F., Harada, N., Yamada, M., Murohisa, B., Oguni, I. 2004. Inhibitory effect of green tea catechins in combination with sucralfate on *Helicobacter pylori* infection in Mongolian gerbils. J Gastroenterol 39:61 – 63。