

云南省景洪地区大茶树咖啡碱和儿茶素含量的比较

段志芬¹, 成浩², 尚卫琼¹, 李友勇^{1*}, 杨毅坚¹, 杨盛美¹, 刘本英^{1*}, 矣兵¹, 郭顺云³ (1. 云南省农业科学院茶叶研究所, 云南勐海 666201; 2. 中国农业科学院茶叶研究所, 浙江杭州 310008; 3. 云南省景洪市农业局经济作物工作站, 云南景洪 666101)

摘要 [目的]对云南省景洪地区大茶树资源进行调查,以儿茶素类和咖啡碱含量为筛选指标,为筛选优异茶树种质资源提供依据。[方法]采用高效液相色谱法对云南省景洪地区49株大茶树的咖啡碱和儿茶素含量进行测定和比较。[结果]景洪地区大茶树儿茶素总含量的变化范围为9.500%~21.137%,酯型儿茶素含量的变化范围为0.085%~10.045%,其中表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)含量的变化范围为3.717%~8.977%。非酯型儿茶素含量的变化范围为1.297%~4.346%;咖啡碱含量的变化范围为0.55%~4.76%;14株大茶树的EGCG含量均大于7.000%,其中10株为低咖啡碱茶树资源(咖啡碱含量≤1.50%)。[结论]该研究结果对云南地区选育优异茶树种质资源具有一定的指导意义。

关键词 大茶树;儿茶素;咖啡碱;高效液相色谱

中图分类号 S571.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)27-0001-03

Comparative Analysis of Catechin and Caffeine Content of Tea Plant in Jinghong Region of Yunnan Province

DUAN Zhi-fen¹, CHENG Hao², SHANG Wei-qiong¹, LI You-yong^{1*}, LIU Ben-ying^{1*} et al (1. Tea Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Menghai, Yunnan 666201; 2. Tea Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Science, Hangzhou, Zhejiang 310008)

Abstract [Objective] To investigate the tea plant [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze] resources in Jinghong Region of Yunnan Province, to use catechin and caffeine contents as the screening indexes, and to provide references for the screening of specific tea germplasm resources. [Method] High-performance liquid chromatography was used to detect the contents of catechin and caffeine in tea samples. catechin and caffeine contents in 49 tea trees were compared in Jinghong Region of Yunnan Province. [Result] The total catechin content ranged from 9.500% to 21.137%; the ester catechins content ranged from 0.085% to 10.054%. Among them, the EGCG content varied from 3.717% to 8.977%, the nonesterified catechin content ranged from 1.297% to 4.346%; the caffeine content ranged from 0.550% to 4.760%. EGCG in 14 tea trees were greater than 7.000%. Among them, 10 were low caffeine tree resources (caffeine content ≤ 1.50%). [Conclusion] This research results has certain guiding significance to the breeding of excellent tea germplasm resources in Yunnan area.

Key words Tea plant (*Camellia sinensis*); Catechin; Caffeine; HPLC

茶是世界三大饮料之一,发源于我国。茶叶中含有大量的多元酚类化合物,这些化合物统称为茶多酚(Tea polyphenol, TP),占茶叶干重的18%~40%。大量研究表明,茶多酚具有很强的抗氧化能力,一直作为天然的食品抗氧化添加剂^[1]。对茶多酚的化学成分研究表明,茶多酚的主要成分是儿茶素类化合物(Catechins),占茶多酚总量的70%~80%,主要含有儿茶素(C)、表儿茶素(EC)、表儿茶素没食子酸酯(EGC)、表没食子儿茶素(EGC)及表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)等多种活性物质,其中以EGCG含量最高,占儿茶素总量的50%~60%^[2]。GCG、ECG、EGCG属于酯型儿茶素,而EC属于非酯型儿茶素。EGCG是茶叶中具有抗癌功效的核心成分^[3-4],是决定茶叶饮料品质的关键因子之一^[5]。由于儿茶素具有广泛的保健和药理功效,以及较强的食品抗氧化特性,近年来茶叶中儿茶素已成为医药和食品领域的研究热点之一。大量研究表明,EGCG具有抗菌、抗癌、抗突变、除臭、清除自由基、延缓衰老、预防蛀牙、预防和治疗心脑血管系统疾病,以及调理内分泌、免疫系统生物活性,同时对机体内生物代谢酶具有抑制活性,由此将对机体的肝

解毒功能及药物的联合应用产生重要影响^[6-10]。目前,EGCG还不能人工合成,茶叶是EGCG的唯一来源^[5]。茶叶中咖啡碱含量通常为2%~4%,若咖啡碱含量高于5%,则属于高咖啡碱茶树资源;若咖啡碱含量低于1%,则属于低咖啡碱茶树资源^[11]。咖啡碱是一种甲基黄嘌呤,是茶叶的主要呈味物质,具有消食、少睡、利尿、益思等保健功能,适度摄入咖啡碱可以兴奋神经中枢,有利于提高反应速度、集中注意力和消除疲劳,常用作兴奋性药剂^[12-15]。儿茶素类和咖啡碱含量特异性茶树资源的筛选可为茶叶的综合利用提供更大的空间。然而,目前已有儿茶素类和咖啡碱含量特异性茶树资源的研究主要集中于传统栽培茶树品种优质资源的筛选,而一般大茶树的儿茶素含量更高,对其优质资源的筛选却很少报道。笔者以儿茶素类和咖啡碱含量为指标,对云南景洪大茶树资源进行了调查研究。

1 材料与方法

1.1 材料 供试材料取自云南省景洪市内不同乡镇的单株大茶树。选取具有代表性的49份大茶树资源作为试验材料(表1),采摘标准为1芽2叶,采摘时间为2015年4月。

1.2 方法

1.2.1 茶样制作 根据《茶树种质资源描述规范和数据标准》^[16]的方法,制作分析样品,粉碎后待测。

1.2.2 供试品溶液的制备 准备称取0.2 g茶样置于10 mL离心管中,加入5 mL 70%甲醇溶液,70℃水浴浸提10 min(每隔5 min摇动1次),冷却至室温,3 500 r/min转速下离心10 min,按照相同方法操作2次,合并提取液定容至10 mL容

基金项目 国家自然科学基金项目(31160175, 31440034);农业部茶树生物学与资源利用重点实验室开放课题。

作者简介 段志芬(1976-),女,白族,云南大理人,副研究员,硕士,从事茶树资源创新与遗传育种研究。*通讯作者,刘本英,研究员,博士,从事茶树种质资源创新、遗传改良及分子生物学研究;*通讯作者,李友勇,副研究员,硕士,从事茶树种质资源创新与遗传改良研究。

收稿日期 2016-07-06

量瓶,摇匀。吸取 2 mL 提取液至 10 mL 刻度管内,加入 8 mL 稳定液定容至刻度,过 0.45 μm 有机微孔滤膜,取续滤液,即得到供试品溶液。

1.2.3 咖啡碱和儿茶素含量的测定。采用高效液相色谱法(HPLC)测定咖啡碱和儿茶素的含量。色谱柱为 Phenomenex C18 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相为 1% 甲酸水溶液(A)和乙腈(B),线性梯度洗脱 0~42 min,4.0%~18.7% 乙腈,42~43 min,18.7%~4.0% 乙腈;柱温 40℃,流速 1.0 mL/min,检测波长 280 nm;进样量 10 μL。

1.3 数据统计与分析 采用 Excel 和 DPS 软件对试验数据进行统计与分析。

2 结果与分析

2.1 儿茶素总含量 从图 1 可以看出,大茶树茶样中儿茶素类总量的变化范围为 9.500%~21.137%,其中帕冷一队 1 号大茶树、南盆老寨 2 号大茶树、曼伞老寨 3 号大茶树、曼加坡坎 1 号大茶树的儿茶素总含量较高,分别为 21.137%、20.547%、20.281% 和 20.035%;曼播中寨 1 号大茶树、曼加坡坎 6 号大茶树的儿茶素总含量较低,分别为 10.772% 和 9.500%。阮宇成等^[17]研究表明大茶树的儿茶素总含量和酯型儿茶素含量都很低。若大茶树的儿茶素总含量较高,可能是由于向栽培种进化的结果;若大茶树的儿茶素总含量较低,可能是由于其更趋向于野生型茶树。

表 1 供试材料
Table 1 Tested materials

编号 Code	种质名称 Germplasm name	编号 Code	种质名称 Germplasm name	编号 Code	种质名称 Germplasm name
1	曼加干边 4 号大茶树	18	曼加坡坎 2 号大茶树	35	曼加坡坎 10 号大茶树
2	大寨 4 号大茶树	19	大寨 3 号大茶树	36	曼加坡坎 7 号大茶树
3	曼伞老寨 5 号大茶树	20	曼加干边 3 号大茶树	37	大寨 2 号大茶树
4	帕冷一队 3 号大茶树	21	光明水库 2 号大茶树	38	帕冷一队 1 号大茶树
5	曼播中寨 2 号大茶树	22	曼加干边 5 号大茶树	39	曼加干边 6 号大茶树
6	帕冷一队 2 号大茶树	23	曼加干边 2 号大茶树	40	曼加坡坎 11 号大茶树
7	么桌 3 号大茶树	24	曼伞老寨 3 号大茶树	41	科联 1 号大茶树
8	光明水库 3 号大茶树	25	曼加坡坎 5 号大茶树	42	曼加坡坎 8 号大茶树
9	拉沙 2 号大茶树	26	曼加坡坎 1 号大茶树	43	司土老寨 2 号大茶树
10	光明水库 1 号大茶树	27	大寨 1 号大茶树	44	曼加坡坎 3 号大茶树
11	大寨 5 号大茶树	28	曼加干边 1 号大茶树	45	曼加坡坎 4 号大茶树
12	司土老寨 3 号大茶树	29	曼加坡坎 6 号大茶树	46	亚诺 2 号大茶树
13	弯角山大茶树	30	南盆老寨 1 号大茶树	47	曼加坡坎 9 号大茶树
14	光明水库 4 号大茶树	31	嘎洒安麻老寨 1 号大茶树	48	曼伞老寨 4 号大茶树
15	拉沙 1 号大茶树	32	亚诺 1 号大茶树	49	嘎洒安麻老寨 2 号大茶树
16	南盆老寨 2 号大茶树	33	司土老寨 1 号大茶树		
17	洛特老寨 1 号大茶树	34	曼播中寨 1 号大茶树		

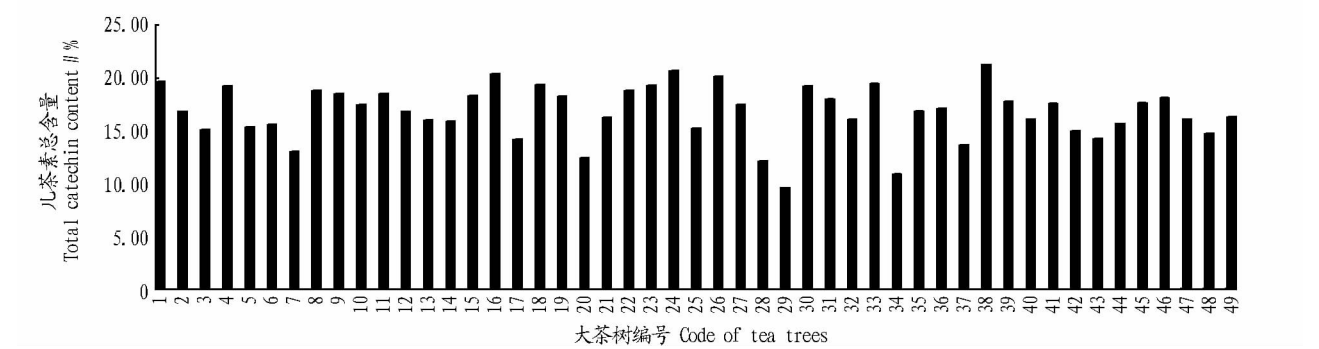


图 1 49 株大茶树儿茶素总含量的比较

Fig.1 Comparison of total catechin contents of 49 tea trees

2.2 酯型儿茶素含量 从图 2 可以看出,茶样的酯型儿茶素类成分的变化范围为 0.085%~10.045%,其中 EGCG 的变化范围为 3.717%~8.977%,EGCG 是茶叶中最主要的酯型儿茶素。EGCG 含量≥8.000%的大茶树有 6 株,分别为曼加坡坎 4 号大茶树(8.977%)、科联 1 号大茶树(8.816%)、嘎洒安麻老寨 1 号大茶树(8.619%)、曼加干边 6 号大茶树

(8.454%)、嘎洒安麻老寨 2 号大茶树(8.263%)、南盆老寨 2 号大茶树(8.173%);曼伞老寨 5 号大茶树 EGCG 含量最低,为 3.717%。龚志华等^[18]将 EGCG 含量超过 7.000%的茶树视为高 EGCG 特性茶树资源。由此可见,1 号、4 号、12 号、16 号、22 号、24 号、27 号、31 号、32 号、33 号、39 号、41 号、45 号、49 号大茶树都属于高 EGCG 含量的茶树资源。GCG 含量超

过 0.25% 的大茶树有 5 株,其中帕冷一队 1 号大茶树 GCG 含量最高(0.35%),而么桌 3 号大茶树的 GCG 含量最低(0.09%)。ECG 含量超过 7.50% 的大茶树有 5 株,其中帕冷一队 1 号大茶树的 ECG 含量最高(10.45%),而么桌 3 号大

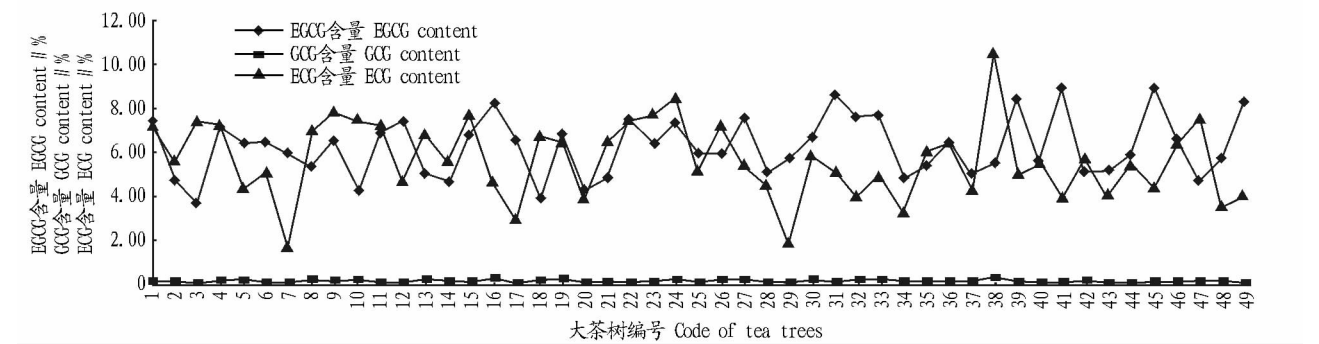


图 2 49 株大茶树酯型儿茶素含量的比较
Fig.2 Comparison of ester catechin contents of 49 tea trees

茶树的 ECG 含量最低(1.73%)。

2.3 非酯型儿茶素 EC 含量 从图 3 可以看出,大茶树的非酯型儿茶素类含量的变化范围为 1.297% ~4.346%。其中,曼加坡坎 2 号大茶树的非酯型儿茶素含量最高,为 4.346%;弯角山大茶树的非酯型儿茶素含量最低,为 1.297%。非酯型儿茶素含量 $\geq 4.000\%$ 的大茶树有 1 株,非酯型儿茶素含量 $\geq 3.000\%$ 的有 2 株;非酯型儿茶素含量 $\leq 2.000\%$ 的有 9

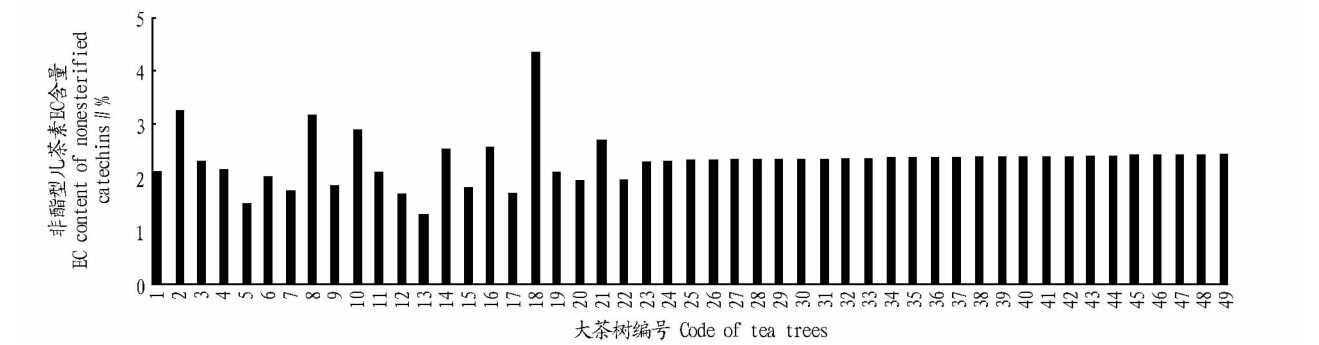


图 3 49 株大茶树非酯型儿茶素 EC 含量的比较
Fig.3 Comparison of EC content of nonesterified catechins in 49 tea trees

2.4 咖啡碱含量 从图 4 可以看出,景洪地区大茶树资源咖啡碱含量的变化范围为 0.55% ~4.76%。49 株大茶树种质中咖啡碱含量最高的是曼加坡坎 11 号大茶树(4.76%),其次为曼加干边 4 号大茶树(4.72%);咖啡碱含量最低的是曼加坡坎 6 号大茶树,为 0.55%;咖啡碱含量为 4.00% ~5.00% 的大茶树资源有 23 株,咖啡碱含量为 2.00% ~4.00% 的大茶树资源有 10 株,CAF 含量为 1.50% ~2.00% 的大茶树资源有 3 株,而低咖啡碱含量($\leq 1.50\%$)的特异资

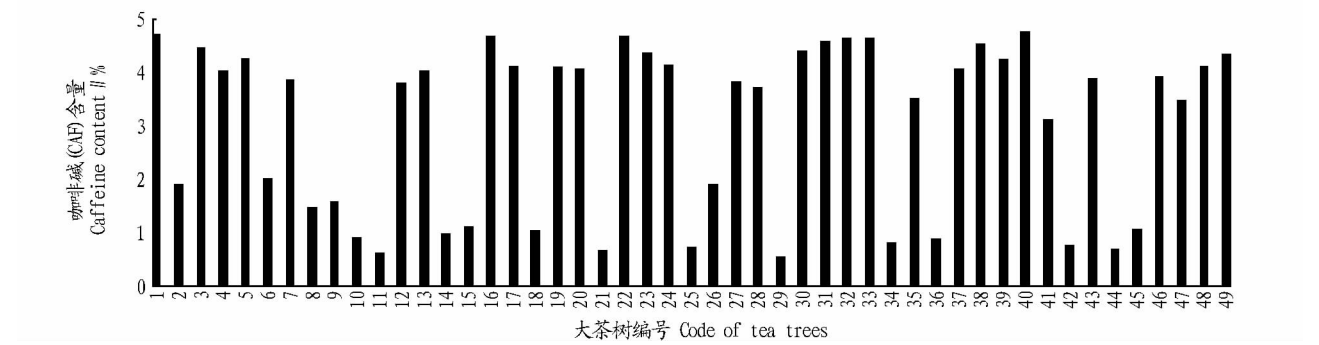


图 4 49 株大茶树咖啡碱含量的比较
Fig.4 Comparison of caffeine content of 49 tea trees

1175 – 1182.

[69] UENO D,YAMAJI N,KONO I,et al. Gene limiting cadmium accumulation in rice[J]. Proceedings of the national academy of sciences,2010,107(38):16500 – 16505.

[70] UENO D,KOYAMA E,YAMAJI N,et al. Physiological,genetic,and molecular characterization of a high-Cd-accumulating rice cultivar, Jarjan [J]. Journal of experimental botany,2011,62(7):2265 – 2272.

[71] SATOH-NAGASAWA N,MORI M,NAKAZAWA N,et al. Mutations in rice(*Oryza sativa*)heavy metal ATPase 2(OsHMA2)restrict the translocation of zinc and cadmium[J]. Plant & cell physiology,2012,53(1):213 – 224.

[72] ZHAO F Y,HAN M M,ZHANG S Y,et al. Hydrogen peroxide-mediated growth of the root system occurs via auxin signaling modification and variations in the expression of cell-cycle genes in rice seedlings exposed to cadmium stress[J]. Journal of integrative plant biology,2012,54(12):991 – 1006.

[73] HAN C D,CHOI Y D. OsMPT gene for modifying plant architecture and increasing yield,and uses thereof;20120284875[P]. 2012.

[74] 李正翔. 不同基因型水稻剑叶中镉向籽粒再分配差异性研究[D]. 北京:中国农业科学院,2014.

[75] 李兆伟,熊君,齐晓辉,等. 水稻灌浆期叶片蛋白质差异表达及其作用机理分析[J]. 作物学报,2009,35(1):132 – 139.

[76] ISHIKAWA S,AE N,YANO M. Chromosomal regions with quantitative trait loci controlling cadmium concentration in brown rice(*Oryza sativa*) [J]. New phytologist,2005,168(2):345 – 350.

[77] JIN L,LU Y,XIAO P,et al. Genetic diversity and population structure of a diverse set of rice germplasm for association mapping[J]. Theoretical & applied genetics,2010,121(3):475 – 487.

[78] ABE T,NONOU E Y,ONO N,et al. Detection of QTLs to reduce cadmium content in rice grains using LAC23/Koshihikari chromosome segment substitution lines[J]. Breeding science,2013,63(3):284 – 291.

[79] SATO H,SHIRASAWA S,MAEDA H,et al. Analysis of QTL for lowering cadmium concentration in rice grains from ‘LAC23’[J]. Breeding science,2011,61(2):196 – 200.

[80] HUANG Y,SUN C X,MIN J,et al. Association mapping of quantitative trait loci for mineral element contents in whole grain rice(*Oryza sativa* L.) [J]. Journal of agricultural & food chemistry, 2015, 63: 10885 – 10892.

[81] ISHIKAWA S,ABE T,KURAMATA M,et al. A major quantitative trait locus for increasing cadmium-specific concentration in rice grain is located on the short arm of chromosome 7[J]. Journal of experimental botany, 2010,61(3):464 – 469.

[82] UENO D,KONO I,YOKOSHO K,et al. A major quantitative trait locus controlling cadmium translocation in rice(*Oryza sativa*) [J]. New phytologist,2009,182(3):644 – 653.

[83] 丁艳菲. 水稻镉胁迫应答相关 microRNA 的分离与功能研究[D]. 杭州:浙江大学,2012.

[84] DING Y F,YE Y Y,JIANG Z H,et al. MicroRNA390 is involved in cadmium tolerance and accumulation in rice[J]. Frontiers in plant science, 2016,7:1 – 8.

[85] 王蜜安,尹丽辉,彭建祥,等. 综合降镉(VIP)技术对降低糙米镉含量的影响研究[J]. 中国稻米,2016,22(1):43 – 47.

(上接第3页)

源有14株,咖啡碱含量极低($\leq 1.00\%$)的大茶树有10株,包括曼加坡坎6号大茶树、大寨5号大茶树、光明水库2号大茶树、曼加坡坎3号大茶树、曼加坡坎5号大茶树、曼加坡坎8号大茶树、曼播中寨1号大茶树、曼加坡坎7号大茶树、光明水库1号大茶树、光明水库4号大茶树。若咖啡碱含量低于1.00%,则属于低咖啡碱茶树资源,甚至可称为无咖啡碱茶树资源。在茶组植物中,天然低咖啡碱茶树资源非常稀少,可作为一种低咖啡碱茶树品种选育的试材。不同株大茶树的咖啡碱含量差异较大的主要原因可能是野生古茶树种质资源分布在不同的地区,茶树资源具有丰富的生物多样性。

3 结论

笔者通过对景洪地区大茶树资源的调查和筛选,发现1号、4号、12号、16号、22号、24号、27号、31号、32号、33号、39号、41号、45号、49号大茶树都属于高EGCG含量的茶树资源,其EGCG含量均高于7.000%。低咖啡碱含量($\leq 1.50\%$)的大茶树资源有14株,其中咖啡碱含量极低($\leq 1.00\%$)的大茶树有10株,包括曼加坡坎6号大茶树、大寨5号大茶树、光明水库2号大茶树、曼加坡坎3号大茶树、曼加坡坎5号大茶树、曼加坡坎8号大茶树、曼播中寨1号大茶树、曼加坡坎7号大茶树、光明水库1号大茶树、光明水库4号大茶树,占总资源数的24.08%。

参考文献

[1] 陈义,汪小刚,宛晓春. 没食子儿茶素没食子酸酯制备新工艺的研究[J]. 安徽农业大学学报,2007,34(3):364 – 368.

[2] 宛晓春. 茶叶生物化学[M]. 3版. 北京:中国农业出版社,2003.

[3] JANKUN J,SELMAN S H,SWIERCZ R. Why drinking green tea could prevent cancer [J]. Nature,1997,387(6633):561.

[4] 邓永亮,冯雷,吕才有. 一种快速检测茶叶中儿茶素的 HPLC 方法[J]. 西南农业学报,2011,24(3):932 – 935.

[5] 浙江农业大学. 茶树栽培学[M]. 2版. 北京:中国农业出版社,1996.

[6] 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.

[7] 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.

[8] 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.

[9] 梁纲,符麟军. 表没食子儿茶素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.

[10] 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.

[11] 钟萝. 茶叶品质理化分析[M]. 上海:上海科学技术出版社,1989:289 – 295.

[12] PARÉ W. The effect of caffeine and seconal on a visual discrimination task[J]. Journal of comparative and physiological psychology, 1961, 54(5):506 – 509.

[13] SMITH A. Effects of caffeine on human behavior[J]. Food and chemical toxicology,2002,40(9):1243 – 1255.

[14] PEELING P,DAWSON B. Influence of caffeine ingestion on perceived mood states,concentration,and arousal levels during a 75-min university lecture[J]. Advances in physiology education,2007,31(4):332 – 335.

[15] BRUNYÉ T T,MAHONEY C R,LIEBERMAN H R,et al. Caffeine modulates attention network function[J]. Brain and cognition,2010,72(2):181 – 188.

[16] 陈亮,杨亚军,虞富莲,等. 茶树种质资源描述规范和数据标准[S]. 北京:中国农业出版社,2005:57 – 64.

[17] 阮宇成,程启坤. 茶儿茶素的组成与绿茶品质的关系[J]. 园艺学报,1964,3(3):287 – 300.

[18] 龚志华,黄甜,庞月兰,等. HP-20 大孔吸附树脂分离纯华儿茶素 EGCG 的效果[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版),2010,36(1):87 – 90.