

# 高粱子實單寧含量分析法之比較及差異與分佈之探討<sup>1</sup>

張隆仁<sup>2</sup> 李台強<sup>3</sup>

## 摘 要

本試驗以包括雜交高粱台中五號之親本2R、80B及4個具不同子實單寧含量之姊妹系(sister line)即TUI-1、TUI-2、TUI-3和TUI-4等六個高粱自交系為材料，分別以香草醛鹽酸分析法(V-HCl)、香草醛鹽酸修正法(MV-HCl)和香草醛鹽酸24 hr萃取之修正法(MV-HCl, 24-hr extraction)等三種高粱子實單寧含量分析法測其單寧含量進行比較。參試品系以三種分析法分析結果顯示，分析法間有極顯著的差異存在，參試品系間則有顯著差異。三種分析法中以MV-HCl (24-hr)之分析法最易判別出品系間子實單寧含量之差異性，依單寧含量之高低，可將6品系區別為TUI-4、TUI-3、TUI-2、TUI-1及(80B、2R)等5群；其次為MV-HCl分析法可區別為TUI-4、TUI-3、(TUI-2、TUI-1)及(80B、2R)等4群；而V-HCl分析法則僅能將其區別為TUI-4、TUI-3及(TUI-2、TUI-1、80B、2R)等三群。不同穗部位之子實經取樣分析結果其單寧含量不具顯著性之差異。另子實內單寧含量分佈情形之分析結果指出，存在部位之含量百分比依不同品種而異，以種皮層及果皮部含有較高的單寧含量。

關鍵字：高粱、單寧、分析法。

## 前 言

高粱(*Sorghum bicolor* (L.) Moench)亦稱蜀黍，為世界第五大宗之禾穀類作物，在台灣地區高粱亦為重要雜糧作物之一，近年來每年栽培面積約維持在二萬五千公頃左右<sup>(2)</sup>，主要作為釀酒及飼料原料用途。高粱子實作為食用與飼料原料，常因種皮的色素成分而導致營養價值的減低，此類色素可分為二大類：其一為胡蘿蔔素(carotenoids)；另一為酚類化合物(phenolic compounds)。後者即為慣稱單寧(tannin)類的物質，此類物質又可區分為二類，一為具flavan-3-ol、flavan-3,4-diol之衍生物，稱為聚合性單寧(condensed tannin)，另一則為可水解性單寧(hydrolyzable tannin)。某些具高單寧之高粱品種其單寧通常存在於果皮(pericarp)和色素種皮(pigmented testa)中，同時以Oligomeric procyanidins的型式存在，此對於鳥類有明顯的拒斥作用。因此，有被援為抗鳥物質<sup>(3,4,8,9,15)</sup>。單寧本身具有苦澀味，可抑制穗上發芽種子的發霉並提高種子之發芽率<sup>(1,6,13,14,21,22)</sup>。惟高單寧含量會降低種實的營養價值及其口味，市場價值不佳。其主要原因為單寧的5-OH鍵會和蛋白質上的Keto-mide peptide鍵中的氧形成氫鍵，產生沉澱，致影響蛋白質的利用率和消化係數。通常高單寧含量會造成老鼠與雞隻的體重減低

<sup>1</sup> 台中區農業改良場研究報告第 0399 號。

<sup>2</sup> 台中區農業改良場助理研究員。

<sup>3</sup> 茶業改良場助理研究員。

30~50%<sup>(17)</sup>。高粱子實顏色大致可分為黃、白、棕色與雜色，其中以棕色系列的子實含單寧量較高。在未熟的子實中，單寧含量較多，具濃苦澀味，成熟後則因聚合程度增加而減低其苦澀味<sup>(3,13,14)</sup>。

高粱子實單寧含量的分析法較普遍被採用的有香草醛鹽酸分析法(vanillin hydrochloric acid即V-HCl)<sup>(4)</sup>，修正之香草醛鹽酸法(MV-HCl)，普魯士藍(prussian blue)<sup>(17)</sup>，澱粉酶抑制法<sup>(9)</sup>，蛋白質沉澱法(protein precipitation)<sup>(19)</sup>及Folin-Denis等方法<sup>(17)</sup>。由於這些方法僅能對多酚類(poly phenols)中之某些成份具特定性或專一性而有其限制存在，另處理樣品及萃取方法亦皆會影響其實測值<sup>(11)</sup>。因此，進行分析前須確定對象，選擇最適當的方法。本試驗主要目的即以本研究室擬進行之遺傳育種研究之親本材料，採用三種不同的分析法進行比較，期選擇一較具實用性及重複性的分析法，同時再進行同一高粱穗之不同部位之子實取樣分析探討其差異性，並探討子實內單寧含量之分佈部位，作為進一步遺傳研究之參考依據。

## 材料與方法

本試驗以雜交高粱台中5號之親本2R(稔性恢復品系)，80B (細胞質雄不稔維持品系)和台灣大學農藝系謝兆樞博士提供之四個具不同子實單寧含量之姊妹系(sister lines)，代號TUI-1、TUI-2、TUI-3和TUI-4等6個高粱自交系為參試材料進行試驗。6個參試品系的來源列於表一。本試驗於民國77年春作，採用逢機完全區集設計，3重複，行長5 m，行株距60×10 cm，種植於本場試驗田，田間管理同一般推荐之栽培管理法，開花前進行套袋以確保自交。

### 不同單寧含量化學分析法評估比較

本試驗之取樣方法係於子實成熟時每品系逢機收穫果穗，進行脫粒，混合後逢機取樣4重複，分別以三種方法測定單寧含量。三種單寧分析法內容詳如以下所示：

- 一、香草醛鹽酸法(V-HCl)：為Burns<sup>(4)</sup>發展之方法，其先稱取0.2 g之磨粉樣品，加上甲醇(methanol)抽取，在室溫下靜置分鐘後，離心分成二部分測定(A)取1 ml懸浮液，加5 ml Vanillin試劑(50:50混合Vanillin /8% HCl溶於甲醇)，(B)取1 ml懸浮液加5 ml 4%鹽酸溶於甲醇中，兩者均置於30°C水溶液中20分鐘後，利用UV-160及Spectro photometer以500 nm波長，測其吸光度與Catechin標準溶液比較應用(A)-(B)，求出單寧含量。
- 二、香草醛鹽酸修正法(MV-HCl)：為Maxson & Rooney<sup>(16)</sup>發展之方法稱取0.2 g磨粉樣品，加10 ml 1% HCl溶於甲醇抽取，在水溶中20分鐘後離心，其餘步驟同V-HCl法。
- 三、24 hr萃取之香草醛鹽酸修正法(MV-HCl, 24-hr extraction)：係Price等<sup>(18)</sup>所發展之修正法，其先稱取0.2 g磨粉樣品加5 ml 10% HCl溶於甲醇中，於室溫下在振盪器中振盪24 hr後取澄清液加5 ml Vanillin試驗劑(50:50混合Vanillin/8%)溶於甲醇，20分鐘後用500 nm波長測吸光度，求出單寧含量。

### 不同穗部位子實單寧含量差異之探討

本試驗以四個姊妹系TUI-1、TUI-2、TUI-3及TUI-4為取樣材料，各參試品系取樣12穗，每穗分別自上、中、下部位，取其子粒，應用MV-HCl分析法測其單寧含量。

### 高粱子實內單寧含量之分佈部位探討

本試驗以2R及三個姊妹系TUI-2、TUI-3及TUI-4為材料，各參試驗品系逢機取樣200粒，將一半子實利用去皮機去皮20%後測定單寧含量，另一半不去皮直接測定，以資對照，每一樣品分別取三重複測定。

表一、參試高粱品系之來源

Table 1. Source of sorghum strains used for experiments

品系	來源
80B	雜交高粱台中5號母本(細胞質雄不稔品系)之維持親本
2R	雜交高粱台中5號父本(稔性恢復品系)
TUI-1	國立台灣大學農藝系 SA6649×DDET6662 雜交後代選育而來之不同單寧含量之姊妹系，果皮乳白色
TUI-2	國立台灣大學農藝系 SA6649×DDET6662 雜交後代選育而來之不同單寧含量之姊妹系，果皮乳白具紅斑
TUI-3	國立台灣大學農藝系 SA6649×DDET6662 雜交後代選育而來之不同單寧含量之姊妹系，果皮棕色
TUI-4	國立台灣大學農藝系 SA6649×DDET6662 雜交後代選育而來之不同單寧含量之姊妹系，果皮棕色帶紅斑

## 結果與討論

### 高粱子實單寧含量分析法之評估比較

本項試驗乃參考文獻報告中，最被廣泛應用於高粱子實單寧含量分析之香草醛鹽酸分析法(V-HCl)，修正之香草醛鹽酸分析法(MV-HCl)及應用24 hr萃取修正之香草醛鹽酸分析法(MV-HCl, 24-hr extraction)等三種化學分析法，同時以雜交高粱台中五號之親本2R(稔性恢復品系)及80B(細胞質雄不稔維持品系)和四個具不同單寧含量之姊妹系(sister lines)，代號為TUI-1、TUI-2、TUI-3與TUI-4等計6個高粱自交系為參試材料，進行高粱子實單寧含量化學分析法之評估比較，期選擇一具實用性之分析法，作為育種選拔時之標準分析方法。

參試之6個自交系經以三種化學分析法所測得之實測平均值進行變方分析結果列於表二，由表可知三種分析法間達顯著差異，參試品系間達極顯著差異，而(分析法×品系)之交互作用亦有極顯著之差異。此一結果顯示以三種分析法所測得同一品系之單寧含量值間會有差異存在，其次參試品系間之子實單寧含量差異極顯著。進一步將各參試品系以三種分析法測得之平均值及其標準偏差(standard deviation)值與最小差異檢定(L.S.D)之結果列於表三並圖示於圖一。由表三及圖一顯示，參試之6個自交系，以三種分析法所獲得之子實單寧含量平均值均以TUI-4最高，其次為TUI-3、TUI-2、TUI-1、80B，最低值則均為2R。其中TUI-4品系以三種分析法分析所得平均值均為最高值，且與其它5品系間均有極顯著之差異；其次為TUI-3品系其與TUI-4及其它4品系間以三種方法分析結果亦均有極顯著之差異；TUI-4與TUI-3兩參試品系在三種分析法所得之實測值以V-HCl法分析值最高，其次為MV-HCl法，而以MV-HCl(24-hr)方法所測得之實測值最低(表三、圖一)。其次為TUI-2及TUI-1兩品系經以三種分析法分析結果，以TUI-2之子實單寧含量高於TUI-1，惟在V-HCl及MV-HCl兩方法之分析結果兩品系間不具統計上之顯著差異，而MV-HCl(24-hr)分析結果則達顯著差異，其值分別為 $18.0 \pm 2.8$ 及 $12.8 \pm 1.21$ 。最後為雜交高粱台中5號之親本80B及2R經以三種分析法分析之結果其子實單寧

表二、六個參試驗品系以三種單寧分析法之單寧含量實測值之綜合變方分析表

Table 2. Analysis of variance of tannin content of six strains with three different methods

Source of variance	df	MS	F value
Replication	3	1.73	0.55
Treatment	2	19.51	6.22*
Error (A)	6	3.14	
Line	5	8452.09	3997.24**
T × L	10	216.73	102.50**
Error (B)	45	2.11	

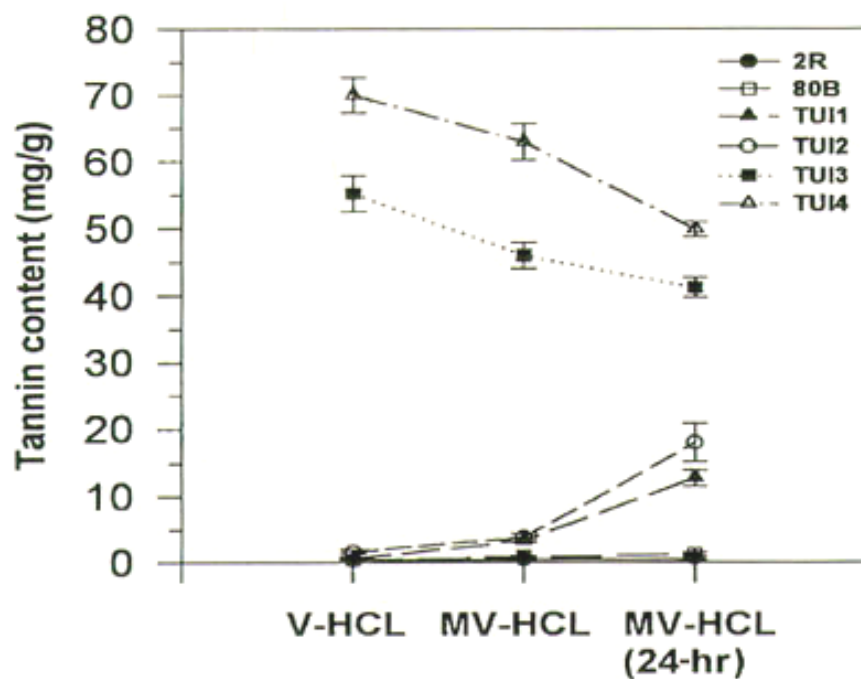
\*, \*\*: Significant at 5% and 1% level.

表三、參試 6 品系以 3 種分析法測得之子實單寧含量之平均值及其標準偏差值

Table 3. Means and standard deviation for grain tannin content of six sorghum lines by three analysis assays

Lines	V-HCl	MV-HCl	MV-HCl (24-hr extraction)
	mg/g		
2R	0.48±0.25 c	0.59±0.18 d	0.72±0.26 e
80B	0.50±0.10 c	0.96±0.13 d	1.27±0.34 e
TUI-1	0.62±0.22 c	3.40±0.33 c	12.80±1.21 d
TUI-2	0.66±0.30 c	3.88±0.61 c	18.00±2.80 c
TUI-3	55.20±2.68 b	45.96±1.98 b	41.17±1.54 b
TUI-4	70.06±2.71 a	62.92±2.74 a	49.86±1.17 a
L.S.D.(5%)	2.4	2.1	2.2

Note: Different letters indicate significantly different at 5% level by L.S.D. test.



圖一、高粱 6 個自交系以 3 種分析法測得之單寧含量平均值與標準偏差。

Fig. 1. Mean and standard deviation for tannin contents of six inbred lines of sorghum by 3 analyzed methods.

含量均為最低值，以80B略高於2R，惟兩者間無顯著差異。上述之TUI-2、TUI-1、80B及2R等四品系以V-HCl分析所得之含量最低，MV-HCl則較高，而MV-HCl (24-hr)法之實測值則最高，此與TUI-4及TUI-3兩品系之實測值有相反之趨勢。再由圖表中可知三種分析法中V-HCl分析法僅能將參試品系區分為TUI-4、TUI-3及(TUI-2、TUI-1、80B、2R)等三群，其中TUI-2、TUI-1、80B和2R等四品系間經分析結果彼此之子實單寧含量無顯著之差異；其次以MV-HCl分析法分析結果則可區分為TUI-4、TUI-3、TUI-2、TUI-1及(80B、2R)等四群；以MV-HCl (24-hr extraction)所測得之結果則又可將參試6品系區分為TUI-4、TUI-3、TUI-2、TUI-1及(80B、2R)等五群。據此顯示三種分析法中以MV-HCl (24-hr extraction)之分析法最易將參試品系判別出品系間之差異，其次為MV-HCl法，而V-HCl法則較難將參試之6品系作出較大之差異判別。

依據前人研究指出高粱之子實單寧含量變化及顯色過程主要受六對遺傳基因之調控，分別為R、Y、I、B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>及S等，其中R及Y兩對基因調控果皮之顏色為白、黃或紅等顏色；B<sub>1</sub>及B<sub>2</sub>二對顯性互補基因則調控含色素種皮(pigmented testa)之存在與否，基因型為B<sub>1</sub>-b<sub>2</sub>b<sub>2</sub>、b<sub>1</sub>b<sub>1</sub>B<sub>2</sub>-或b<sub>1</sub>b<sub>1</sub>b<sub>2</sub>b<sub>2</sub>者均無色素種皮，其機制為B<sub>1</sub>及B<sub>2</sub>顯性基因調控高粱子實內花青素(anthocyanidin)聚合形成單寧之複合體，另S基因即spreader gene亦會影響色素種皮層單寧之聚合程度<sup>(7,13,14,20)</sup>。Price等<sup>(18)</sup>依子實單寧含量之高低基因型將高粱分成三類型：第一型不具色素種皮，其單寧含量趨近於零，所測得之單寧含量數值則可能為其它酚類化合物所致，本試驗參試6品系中之80B、2R應可判定為此類型。第二型高粱則具有色素種皮並有聚合性單寧存在；其果皮顯色基因型為顯性之(B<sub>1</sub>-B<sub>2</sub>-)及隱性之S-基因，其所含之單寧無法直接以丙酮(acetone)或甲醇(methanol)來萃取，而必須以甲醇加上1%的鹽酸(HCl)才能萃取出。第三型則為具抗鳥性之高單寧品系，其果皮基因型除為顯性之(B<sub>1</sub>-B<sub>2</sub>)外，並具有顯性之S-基因，其顯性之S基因之作用為提高果皮及色素種皮中酚類及聚合性單寧之含量並明顯的降低高粱子實之營養價及飼料價，所含之單寧無需加入鹽酸，逕以甲醇溶液即可萃取出來，本試驗參試品系中之TUI-4品系即最明顯可歸類為此型。再就種子發育成熟過程中單寧含量變化而言，一般品系在種子成熟初期，單寧之聚合性逐漸增加，至黃熟期達最高峰，至成熟後期單寧之聚合性則常有顯著降低之情形<sup>(15)</sup>。Bulter等<sup>(7)</sup>報告指出第二型之高粱其子實單寧含量會隨著成熟期而降低其單寧之聚合性之結果，第三型高粱則至種子成熟後期單寧之聚合性仍相當高致影響營養價及飼料價。在育種上則以選拔第二型之品系有利於種子成熟初期及中期之抗鳥性及抗病性，而末期又因單寧之降低而不致影響其營養價。

Earp等<sup>(10,11)</sup>之報告指出具有棕色果皮及色素種且具顯性S-基因之高粱品系其單寧含量無論以V-HCl、MV-HCl或MV-HCl (24-hr)或包括普魯士藍(PB)等其它之簡易分析法分析結果均會有極高之實測值；第一群之高粱品系以V-HCl及MV-HCl分析法所測得之子實單寧含量均極低(低於1%)；而第二群高粱品系子實單寧含量以V-HCl分析法分析時其值低於1%，以MV-HCl分析法則高於2%。另Cummings及Axtell (1973)<sup>(8)</sup>和Price等(1978)<sup>(18)</sup>之試驗結果亦有相同之趨勢。應用24 hr萃取法之香草醛鹽酸分析法(MV-HCl, 24-hr)係由Price等<sup>(18)</sup>於1978年所發展，其以V-HCl、MV-HCl及MV-HCl (24-hr)等三種分析法比較分析第二型高粱之結果仍以MV-HCl及MV-HCl (24-hr)兩法分析所得之單寧含量值遠高於V-HCl分析法之值。本試驗參試6品系中以TUI-1及TUI-2兩品系之分析結果頗符此一趨勢，因此似可將兩品系歸類為第二型之高粱。

再進一步將三種分析法之實測平均值進行直線相關分析結果列於表四，由表可知三種分析法間均有極顯著的相關係數存在，V-HCl和MV-HCl兩分析法間及V-HCl和MV-HCl (24-hr)間之相關係數r值均為0.955\*\*，MV-HCl和MV-HCl (24-hr)間之r值亦達0.954\*\*。此和Earp等<sup>(11)</sup>將21個不同基因型之高粱品種(系)以7種分析法間進行比較有極高之相關係數結果相符合，彼等認為此一高相關係數顯示在比較相對的單寧含量時無須考量分析法之不同。該報告再依據7種分析法之實測值之F-值及變異係數值(C.V.值)之結果認為以MV-HCl (24-hr)分析法最易判別不同基因型間之單寧含量差異，其次為V-HCl分析法，MV-HCl法則較差。惟其最後之結論則認為在與其它實驗室分析資料之比較及交換上來考量時，仍以選擇修正的香草醛鹽酸分析法(MV-HCl)較能夠在不同之實驗室間具重複性(reproducibility)之應用及分析資料之比較參考價值。本試驗結果，雖亦以MV-HCl (24-hr)之修正法最易判別品系間差異，惟其耗費時間，較難應付育種時大量之雜交後代之篩選。而MV-HCl分析法對品系之判別僅次於MV-HCl (24-hr)法，並具有可判別出第二型高粱單寧含量品系之優點，同時在時間上可較MV-HCl (24-hr)法節省，因此本試驗乃選擇以MV-HCl分析法作為往後育種計畫中之標準分析法。

表四、三種高粱子實單寧含量分析法間之相關係數表

Table 4. Correlation coefficients among three methods of tannin analysis

	V-HCl	MV-HCl	MV-HCl (24-hr)
V-HCl	-	0.955**	0.955**
MV-HCl		-	0.954**
MV-HCl (24-hr)			-

\*\* : Significant at 1% level.

#### 不同穗部位子實單寧含量變異之探討

其次為探討同一穗內不同部份間子實單寧含量之變異程度，以四個姊妹系即TUI-1、TUI-2、TUI-3和-4等各取12穗，每穗分別自上、中與下部位取其子實，以MV-HCl分析法測定單寧含量，其結果列於表五，由表可知同一穗內不同部位之子實單寧含量除TUI-3品系之上部位下子粒有顯著差異外，其餘品系之不同穗位子粒間均無顯著性之差異存在，其係取樣時TUI-3品系之果穗子實尚未達均一成熟之故。因高粱果穗中子實之成熟係由下而上，上部份之子粒一般均較為晚熟。而一般高粱子實單寧含量是隨子實成熟期之早晚而有逐漸升高之趨勢。此可從表中各參試品系之下部位子實單寧含量均略高於中部位及上部位之子實單寧含量結果看出。據此顯示進行高粱子實單寧含量分析時整穗的子粒均可逢機取樣，惟應注意整穗之成熟整齊度。

表五、四個高粱品系之上、中、下不同穗部位單寧含量之比較

Table 5. A comparison of tannin contents in upper, middle and lower parts of sorghum panicle

Strains	Upper part of panicle	Middle part of panicle	Lower part of panicle
	----- mg/g -----		
TUI-1	3.36 a	3.46 a	3.44 a
TUI-2	12.83 a	13.52 a	12.98 a
TUI-3	38.13 b	42.49 ab	44.00 a
TUI-4	47.24 a	48.84 a	53.47 a

Note: Different letters indicate significantly different at 5% level by L.S.D. test.

## 高粱子實內單寧含量分佈部位之探討

進一步為瞭解單寧於子實內各組織間的分佈情形，乃將參試之四個品系即2R、TUI-2、TUI-3及-4等逢機取得200粒子實，一半子實去皮20%測定，另一半不去皮直接測定，以資對照，其實測的平均值列於表六。由表得知，單寧存在部位之百分比依不同品系而異，惟各品系均以種皮層及果皮部位含有較高之單寧含量百分比。以2R而言，種皮及果皮中單寧含量有64%的單寧含量，胚及胚乳則佔36%，TUI-2的種皮及果皮中有87.9%，TUI-3為99.6%，TUI-4則為99.5%。據此可知單寧含量愈高之品系其單寧含量亦大部分存在於種皮及果皮層內。Reichert等<sup>(19)</sup>曾以高單寧品系，探討子實中單寧分佈情形，發現單寧主要存在於種皮層中(testa)，其次為果皮(pericarp)，胚乳中則僅有3%左右。Earp及Rooney<sup>(10)</sup>亦指出高單寧含量之品種(系)其種子構造與一般低單寧者有明顯的差異，即為其果皮下有一明顯的含色素種皮(testa亦有稱subcoat)。據此，進行高粱子實單寧含量分析時，為試驗進行之迅速及簡便，不需將高粱子實先行去皮磨粉，以整粒高粱子實磨粉進行單寧含量之分析時亦可獲得可信之實測值。

表六、四個參試高粱品系子實單寧含量之分佈比例

Table 6. Distribution of tannin content within the sorghum grain

Strains	Component of grains	Tannin content (C.E.)	Porportion (%)
2R	T+P(1)	0.416	64
	E+G(2)	0.234	36
TUI-2	T+P	3.404	87.9
	E+G	0.466	12.1
TUI-3	T+P	44.444	99.6
	E+G	0.156	0.4
TUI-4	T+P	63.689	99.5
	E+G	0.311	0.5

Note: (1)T+P = Testa + Pericarp

(2)E+G = Endosperm + Germ

根據上述之試驗研究結果，可確定高粱子實單寧含量之標準分析法即MV- HCl法及取樣之標準，將作為繼續探討有關單寧含量與果皮顏色之遺傳分析，高粱子粒單寧與農藝性狀相關性之研究及單寧含量與種子發芽率及罹病率之關係等遺傳育種研究之參考。

## 參考文獻

1. 林金和 蔡智賢 1982 雜交高粱台中5號低發芽率 科學發展 10:327~334。
2. 臺灣省政府農林廳 1994 臺灣農業年報 台灣省政府印刷廠。
3. 謝兆樞 1985 世界蜀黍之研究現況 科學農業 33(5-6):155~170。
4. Burns, R. E. 1971. Method for estimation of tannin in grain sorghum. Agron. J. 63:511.
5. Bullard, R. W., M. V. Garrison, S. R. Kilburn and J. O. York. 1980. Laboratory comparisons of polyphenols and their repellent characteristics bird-resistant sorghum grains. J. Agric. Food Chem. 28:1006-1011.
6. Buleter, L. G. 1982. Relative degree of polymerization of sorghum tannin during seed development and maturation. J. Agric. Food Chem. 30:1090-1094.

7. Bulter, L. G., J. D. Axtell, R. P. Cantrell and B. J. Woodruff. 1982. Inheritance of tannin quantity in sorghum. *J. Heredity* 73:214-218.
8. Cummings, D. P. and J. D. Axtel. 1973. Relationships of pigmented testa to nutritional quality of sorghum grain in inheritance and improvement of protein content in sorghum. P.112 in: Research Progress Report. Purdue University: West Lafayette, IN.
9. Daris, A. B. and R. C. Hosney. 1979. Grain sorghum condensed tannins. I. Isolation estimation and selective adsorption by starch. *Cereal Chem.* 56:310.
10. Earp, C. F. and L. W. rooney. 1982. Scanning electron microscopy of the pericarp and testa of several sorghum varieties. *Food Microstructure* 1:25.
11. Earp, C. F. J. O. Akingbala, S. H. Ring and L. W. Rooney. 1981. Evaluation of several methods to determine tannins in sorghum with varying kernel characteristics. *Cereal Chem.* 58:234-238.
12. Friend, J. 1977. Phenolic substances and plant diseases. *Recent Adv. Phytochem.* 12:557.
13. Hahn, D. H., J. M. Faubion and L. W. Rooney. 1983. Sorghum phenolic acids and their high performance liquid chromatography separation and their relation to fungal resistance. *cereal chem.* 60:255-259.
14. Hahn, D. H., L. W. Rooney and C. F. Earp. 1984. Tannins and Phenols of sorghum. *Cereal Foods World.* 29:776-779.
15. Hoshino, T. and R. R. D. Duncan. 1982. Sorghum tannin content during maturity under different environmental conditions. *Japan. J. Crop Sci.* 51:178-184.
16. Maxson, E. D. and L. W. Rooney. 1972. Two methods of tannin analysis for sorghum bicolor (L) Moench grain. *Crop Sci.* 12:253-254.
17. Price, M. L. and L. G. Bulter. 1978. Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain. *J. Agric. Food. Chem.* 25:1268-1273.
18. Price, M. L., S. Van Scoyoc and L. G. Bulter. 1978. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain, *J. Agric. Food Chem.* 26:1214-1218.
19. Reichert, R. D., S. E. Fleming and D. J. Schwab. 1980. Tannin deactivation and nutritional improvement of sorghum by anaerobic storage of H<sub>2</sub>O, HCl or NaOH treated grain. *J. Agric. Food Chem.* 28:824-829.
20. Rooney, L. W. and F. R. Miller. 1982. Variation in the structure and kernel characteristics of sorghum. In proceedings of the International Symposium on Sorghum Grain Quantity. ICRISAT. Patancheru Ap, India. P. 143-162.
21. William, R. D. and R. E. Hoagland. 1982. The effects of naturally occurring phenolic compounds on seed germination. *Weed Science* 30:206-212.
22. Woodruff, B. J. and R. P. Cantrell. 1979. Relationship of tannin and seed color to seedling vigour in sorghum bicolor (L.) Moench. *Agronomy Abstract* p.82.

# Evaluation of Three Methods to Determine Grain Tannins Contents in Sorghum and Studies on Tannin Contents Difference Among Panicle and Distribution in Sorghum Grain<sup>1</sup>

Long-Zen Chang<sup>2</sup> and Tai-Chyang Lee<sup>3</sup>

## ABSTRACT

Six inbred lines of sorghum that named 2R, 80B, TUI-1, TUI-2, TUI-3 and TUI-4 were analyzed by three assays: vanillin hydrochloric acid (V-HCl), modified vanillin hydrochloric acid (MV-HCl) and MV-HCl (24-hr extraction) for grain tannin contents. The result data showed that there were significant differences in tannin content among three methods, and highly significant difference among six inbred lines. The method of MV-HCl (24-hr) showed the most sensitive to detecting levels of tannin among these lines. By this method, the detected values of tannin contents for six inbred lines from high to low, can be grouped into five groups, that were TUI-4, TUI-3, TUI-2, TUI-1 and (80B, 2R); And by MV-HCl method, its' can be grouped into four groups, that were TUI-4, TUI-3, (TUI-2, TUI-1) and (80B, 2R); While the final method of V-HCl only can grouped six lines into three groups, that were THI-4, TUI-3, (TUI-2, TUI-1, 80B, 2R). The grain samples that derived from upper, middle and lower part of sorghum panicle, there were no significant differences in tannin contents among them. Further experiment revealed that 64%, 88% (TUI-2) and 99% (TUI-3 and TUI-4) of tannins were distributed in the pericarp and testa of sorghum grain. Endosperm and germ parts contained only small amount of it.

**Key words:** sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), tannins, analyzed method.

---

<sup>1</sup> Contribution No. 0399 from Taichung DAIS.

<sup>2</sup> Assistant Agronomist of Taichung DAIS.

<sup>3</sup> Assistant Agronomist of Tea Improvement Station.