



Rouba Horanni (Autor)

Bestimmung von Aminosäuren und Flavonoiden in Tees



<https://cuvillier.de/de/shop/publications/7509>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen, Germany
Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: <https://cuvillier.de>



1 Einleitung und Zielsetzung

Mit seiner charakteristischen chemischen Zusammensetzung, seinem ausgezeichneten Aroma und seinen gesundheitsfördernden Wirkungen blickt Tee auf eine beispiellose Geschichte zurück. Tee ist neben Wasser das weltweit beliebteste und am meisten konsumierte Getränk. So wurden im Jahr 2015 insgesamt 5.200.324 Tonnen Tee hergestellt, was etwa der Produktion in 2014 entspricht (Deutscher Teeverband e.V., 2016). Der weltweit größte Teeproduzent war in 2015 China mit 2.230.000 Tonnen, gefolgt von Indien, Kenia, Sri Lanka und Indonesien (Deutscher Teeverband e.V., 2016). Der größte Exporteur ist seit Jahren Kenia mit 317.159 Tonnen in 2015.

Die hohe Qualität der im deutschen Handel erhältlichen Tees und die Vielfalt der angebotenen Produkte lassen den Teeverbrauch in Deutschland seit Jahren beständig steigen. Der Pro-Kopf-Verbrauch betrug 28 Liter, davon etwa 70% schwarzer Tee und 30% grüner Tee. Tabelle 1 zeigt die wichtigsten Einfuhrländer mit ihren Hauptanbauregionen und die Menge der Teeproduktion.

Tab. 1-1: Teeimporte nach Deutschland von 2015 (Deutscher Teeverband e.V., 2016)

Produzent	Hauptregionen bzw. -länder	Menge (t)	Anteil (%)
China	Assam, Darjeeling, Dooars, Nilgiri	14.191,90	24,81
Indien	Dimbula, Nuwara-Eliya, Uva	11.951,80	20,91
Sri Lanka		7.778,30	13,61
Afrika	Kenia, Ghana, Malawi, u.v.a.m.	6.589,30	11,53
Indonesien	Java, Sumatra	4.309,20	7,54
Sonstige Asien	Bangladesch, Japan, Korea, Nepal, Taiwan, Türkei, Malaysia, Iran	3.171,40	5,55
Vietnam	-	1.887,40	3,30
Südamerika	Argentinien, Brasilien	2.637,80	4,61

Die Teeverbindungen werden immer noch aufgrund der positiven physiologischen Effekte weiter erforscht. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich primär mit dem Aminosäureprofil des Tees. Zuerst sollte zur Datenerhebung eine Methode zur Quantifizierung von Aminosäuren in Tee entwickelt und validiert werden. Des Weiteren sind ihre Extraktionskinetiken, der Einfluss des Extraktionsverfahrens sowie die Veränderung ihrer Konzentrationen während der Teemanufaktur zu ermitteln.

Auf Basis der gewonnenen Dateien sollten auch Unterscheidungskriterien zur Abgrenzung zwischen schwarzem, grünem, weißem und Oolongtee erarbeitet werden.



Einleitung und Zielsetzung

Um diese Differenzierung zu erweitern und andere Aspekte des Tees zu erforschen sollten auch die Gehalte an physiologisch relevanten, polyphenolischen Verbindungen, wie Flavan-3-olen und der Gesamtpolyphenolgehalt, bestimmt werden.

Aufgrund des Fehlens ausreichender Informationen über die Enantiomerenzusammensetzung der Hauptaminosäure Theanin ist die Entwicklung einer kosteneffektiven, enantioselektiven Trennmethode ein weiteres Ziel dieser Arbeit. Da D-Theanin kommerziell nicht erhältlich und aus dem Tee nicht zu isolieren ist, ist eine Synthese notwendig. Neben dem Gehalt des D-Enantiomers im Tee ist die Untersuchung möglicher Ursachen für die Entstehung bzw. die Racemisierung durchzuführen.

Ferner sollte eine HPLC-Methode zur quantitativen Bestimmung von Proanthocyanidinen optimiert werden, da die Standardsubstanzen nicht erhältlich sind. Das neue Konzept lehnt sich an die ISO-Methode zur Analyse von Teecatechinen anhand relativer Response-Faktoren gegen Koffein als Standard an. Angelehnt

an frühere Studien (Köhler, 2006; Savitri Kumar et al., 2009; Lin & Harnly, 2012) soll versucht werden, die galloylierten Proanthocyanidine zu semisynthetisieren und unter Verwendung der Gegenstrom-Verteilungschromatographie zu isolieren. Anschließend sollen die Response-Faktoren gegen Koffein und Epicatechin bestimmt werden.



2 Grundlagen und Kenntnisstand

2.1 Tee: *Camellia sinensis*

2.1.1 Anbau und Manufaktur

Der immergrüne Teestrauch wird taxonomisch als *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze (Familie *Theaceae*) eingeordnet. Der Strauch kann wildwachsend eine Höhe von 9 m erreichen, wird aber auf den Plantagen, um die Ernte zu erleichtern, ständig beschnitten und auf einer Höhe von ca 1,5 m gehalten. Die Lebenserwartung eines Teestrauches kann bis 100 Jahre betragen. Es werden im Teeanbau die Hauptvarietäten *C. sinensis* (kleine Blätter) und *C. assamica* (große Blätter) kultiviert. Mittlerweile sind auch zahlreiche Hybriden aus Züchtungen dieser beiden Varietäten entstanden, die an unterschiedliche klimatische Bedingungen angepasst sind (Takeo, 1992).

Für die Teezubereitung werden die getrockneten bzw. die fermentierten Triebe, Blattknospen und jungen Blätter des Teestrauches benutzt. Das Pflücken der Teeblätter ist der erste Schritt des Teeherstellungsprozesses. Dieser ist zeitaufwendig, aber auch von höchster Bedeutung für die Zusammensetzung, die Qualität und somit den zu erwartenden Preis des Tees. So haben die Stängel im Vergleich zu den Blättern eine andere Zusammensetzung (Engelhardt, 2010). Die Verwendung älterer oder beschädigter Blätter führt ebenso zu einer niedrigeren Qualität. Daher werden meist die beiden jüngsten Blätter und die Knospe („two leaves and a bud“) handgepflückt. Maschinengepflückter Tee ist heute weit verbreitet, aber ihm mangelt es an dieser Selektivität. Es gibt bis zu vier Pflückperioden, die als „First-, In-between, Second Flush und end of season“ bezeichnet werden. Die frisch gepflückten Teeblätter sollten so schnell wie möglich weiter verarbeitet werden. Je nach Herstellungsverfahren werden z.B. der fermentierte Schwarztee, der halbfermentierte Oolong-Tee, der unfermentierte Weiß- und Grüntee oder der durch einen speziellen Reifungsprozess hergestellte Pu-Erh-Tee gewonnen. Der Fermentationsschritt ist bei der Herstellung von schwarzem Tee sehr wichtig. Die Grundlage ist eine enzymatische Oxidation von Catechinen zu Theaflavinen und Thearubigenen. Die Polyphenoloxidase (PPO, EC 1.10.3.1) benötigt Sauerstoff, um die Oxidation des *ortho*-Diphenols am B-Ring auszulösen. Neben der Oxidation der Catechine werden in diesem Schritt auch andere Inhaltsstoffe verändert oder gebildet. Die irreführende Bezeichnung *Fermentation* für die oxidativen



Grundlagen und Kenntnisstand

enzymatischen Reaktionen stammt aus einer Zeit, in der die Beteiligung von Mikroorganismen angenommen wurde. Eine bessere Bezeichnung für diesen Prozess wäre Enzymation (Chu, 1997) oder Oxidation (Belitz et al., 2008). Die ISO bezeichnet diesen Schritt im Standard 3720 (ISO 3720, 2011) einfach als „aeration“ (Belüftung)

Weißer Tee

Zur Herstellung von *weißem Tee* werden nur die ungeöffneten Knospen sorgfältig gepflückt. Einige Sorten (wie z.B. Pai Mu Tan) enthalten außer den Knospen noch die zwei jüngsten Blätter. Die Blätter werden nicht gedämpft bzw. geröstet, sondern nur an der Luft getrocknet. Hierbei erfolgt weder eine Änderung der Blattstruktur und so verbleiben die feinen weißlichen Härchen an dem Blatt, noch eine Inaktivierung der in den Blättern enthaltenen Enzyme (Sajilata et al., 2008). Daher wird weißer Tee in manchen Veröffentlichungen als fermentierter Tee eingeordnet (Hilal, 2010). In anderen Quellen wird weißer Tee als nicht fermentiert eingestuft (Alcázar et al., 2007). Letztere Definition wird auch in dieser Arbeit weiter benutzt. Ein anderer Vorschlag für die Definition des weißen Tees nach einem ISO-Entwurf geht davon aus, dass es sich bei allen geschnittenen oder verdrehten Blättern nicht um einen Weißtee handelt. Der Grund dafür ist das Entfallen des Rollens bei der Herstellung von weißem Tee. Nach der geographischen Definition werden nur Tees aus der chinesischen Provinz Fujian als weißer Tee eingeordnet (Hilal, 2010).

Grüner Tee

Bei der Herstellung von *grünem Tee* werden die blatteigenen Enzyme, hauptsächlich die Polyphenoloxidase und Catalase, durch Erhitzen inaktiviert. Dafür wird entweder das Dämpfen (in Japan) oder das Rösten (in China) angewandt. Infolge dieses Schrittes wird die Oxidation der phenolischen Verbindungen, insbesondere der Flavanole, verhindert und das Chlorophyll bleibt erhalten. Grünem Tee fehlen entsprechend die für fermentierten Tee typischen Kondensationsprodukte, wie Theaflavine und Thearubigine. Als weiterer Arbeitsgang kann sich das Rollen anschliessen, wobei die Blattgröße verkleinert wird. Danach wird 30 – 40 Min. bei 80 – 110 °C getrocknet (Engelhardt, 1999b)

Oolong Tee

Oolong-Tee stammt vor allem aus Taiwan und Teilen Chinas. Oolong Tees kombinieren den sensorischen Charakter von Schwarz- und Grüntee. Nach dem Pflücken werden die Teeblätter an der Sonne 60 – 120 Min. und dann weiter 4 – 6 Stunden in die



Innenraumluft gewelkt, wodurch der Wassergehalt auf ca. 60% reduziert wird. In dieser Phase werden die Blätter von Hand schonend gerollt für 20 Min., danach erfolgt die Fermentation für ca. 2 Stunden. Anschließend werden die halbfermentierten Blätter bei 250 – 300 °C in der Pfanne geröstet und getrocknet. (Willson & Clifford, 1992; Chen et al., 2010a). Jedoch ist die Dauer und die Art seiner speziellen Fermentation nicht einheitlich, was die verschiedenen Sorten dieses Tees ergibt (Engelhardt, 2010). Charakteristisch für Oolong-Tee sind die durch die spezielle Manufaktur entstandenen braunen („anfermentierten“) Stellen am Blattrand. Auf ISO-Ebene ist eine Arbeitsgruppe eingerichtet worden, die eine Definition von Oolong-Tee vorbereiten soll.

Schwarzer Tee

Zur Herstellung von *schwarzem Tee* wird der Wassergehalt innerhalb von 4-18 Stunden durch das in Welkhäusern oder Welktrommeln durchgeführte Welken („withering“) auf ca. 68% reduziert (Roberts, 1958; Belitz et al., 2008). Dadurch werden die Blätter weich und zart, und lassen sich ohne Bruch rollen. Bei der Herstellung des schwarzen Tees werden das orthodoxe und das CTC-Verfahren unterschieden. Beim orthodoxen Verfahren werden während des Rollens (Dauer: ca. 30 Min.) die Zellwände aufgebrochen. Dieses führt zu einem Austritt des Zellsaftes. Wenn der Saft mit Luftsauerstoff in Kontakt kommt, wird die Oxidation durch die teeigenen Enzyme, vor allem die Polyphenoloxidase, ausgelöst (Roberts, 1958). Dieser Schritt dauert ca. 2 – 3 Stunden bei 25 – 40 °C, wobei die Teeblätter etwa 3,5 – 7 cm hoch aufgehäuft werden (Engelhardt, 1999b; Belitz et al., 2008). Bei diesem enzymatischen Vorgang entstehen höhemolekulare Verbindungen, die Theaflavine und Thearubigine, die für die charakteristischen Eigenschaften des schwarzen Tees verantwortlich sind (Roberts et al., 1957; Wang et al., 2000). Chlorophyll und Carotinoide werden abgebaut (Roberts, 1958; Engelhardt, 1999c) und aromarelevante Verbindungen werden gebildet (Grosch, 1998). Beim CTC (Crushing-Tearing-Curling)-Verfahren werden die Blätter nach dem Welken zerquetscht, zerrissen und gerollt. Der Oxidationsschritt ist der gleiche wie beim orthodoxen Verfahren, wobei die Zeit hier wegen der vergrößerten Oberfläche verkürzt ist. Dieses Verfahren gewann durch das Wachsen des Teebeutel-Marktes an Bedeutung. Zuletzt wird der Tee nach den verschiedenen Blattgrößen: Blatt-Tee, Broken, Fannings und Dust anhand mechanischer Siebvorrichtungen sortiert (Abbildung 1).

Pu-Erh Tee

Pu-Erh Tee ist ein sehr bekannter dunkler chinesischer Tee (Chinese Dark Teas), der hauptsächlich aus der Variante *assamica* des Teestrauches hergestellt wird (Zhang et al., 2013). Pu-Erh Tee stammt aus der chinesischen Provinz Yunnan. Seine charakteristische Farbe und sein kräftiger erdiger Geschmack ist der speziellen Nach-Fermentation durch Mikroorganismen zu verdanken. Zahlreiche Mikroorganismen wurden bereits im reifen Pu-Erh Tee identifiziert, isoliert und für die weitere industrielle Herstellung von Pu-Erh Tee benutzt, wie z.B. *Aspergillus* (u.a. *A. niger*, *A. wenti*, *A. sydowii*, *A. fumigatus*), *Penicillium* (u.a. *P. oxalicum*, *P. griseofulvum*) und Hefen / Pilze (u.a. *Pichia farinose*, *Arxula adenivorans*) (Duh et al., 2004; Zhang et al., 2013). Zur Herstellung von Pu-Erh Tee werden die Teeblätter zuerst durch Dämpfen oder Rösten erhitzt und damit die eigenen Enzyme inaktiviert. Danach erfolgen das Rollen bzw. die Formung und anschließend die Trocknung. Um reifen Tee zu erhalten, wird der nach dem Trocknen erhaltene Roh-Tee entweder für einige Jahre gelagert (gealterter Tee) oder unter bestimmten Bedingungen (Temperatur und Feuchtigkeit) mit Hilfe der hinzugefügten Pilze (reifer Tee) hergestellt.

Tee-Extrakt

Als Tee-Extrakte bezeichnet man wässrige Auszüge aus Tee, denen das Wasser durch Sprüh- oder Gefriertrocknen weitgehend entzogen ist (Restfeuchte: 3 – 5%). Das entstandene Pulver wird zur Herstellung von Fertiggetränken verwendet. Der Herstellungsprozess von *Tee-Extrakten* umfasst die Auswahl des Rohmaterials, Extraktion, Aromarückführung, Cream-Bearbeitung, Konzentrierung, Trocknung (Willson & Clifford, 1992; Lakenbrink, 2000).

Die Verhinderung einer Trübung, auch Cream genannt, ist besonders bei der Herstellung kaltwasserlöslicher Extrakte wichtig. Ein verbreitetes Verfahren ist die Alkalibehandlung (Lakenbrink, 2000). Das Einsetzen der Tannase zur Creamverarbeitung ist auch beschrieben.

Die Studie von Lu et al. (2009) belegt, dass ein mit Tannase behandelter Grüntee eine bessere Farbe, einen sehr niedrigen Creamgehalt und eine hohe Stabilität der Catechine zeigt.

Grundlagen und Kenntnisstand

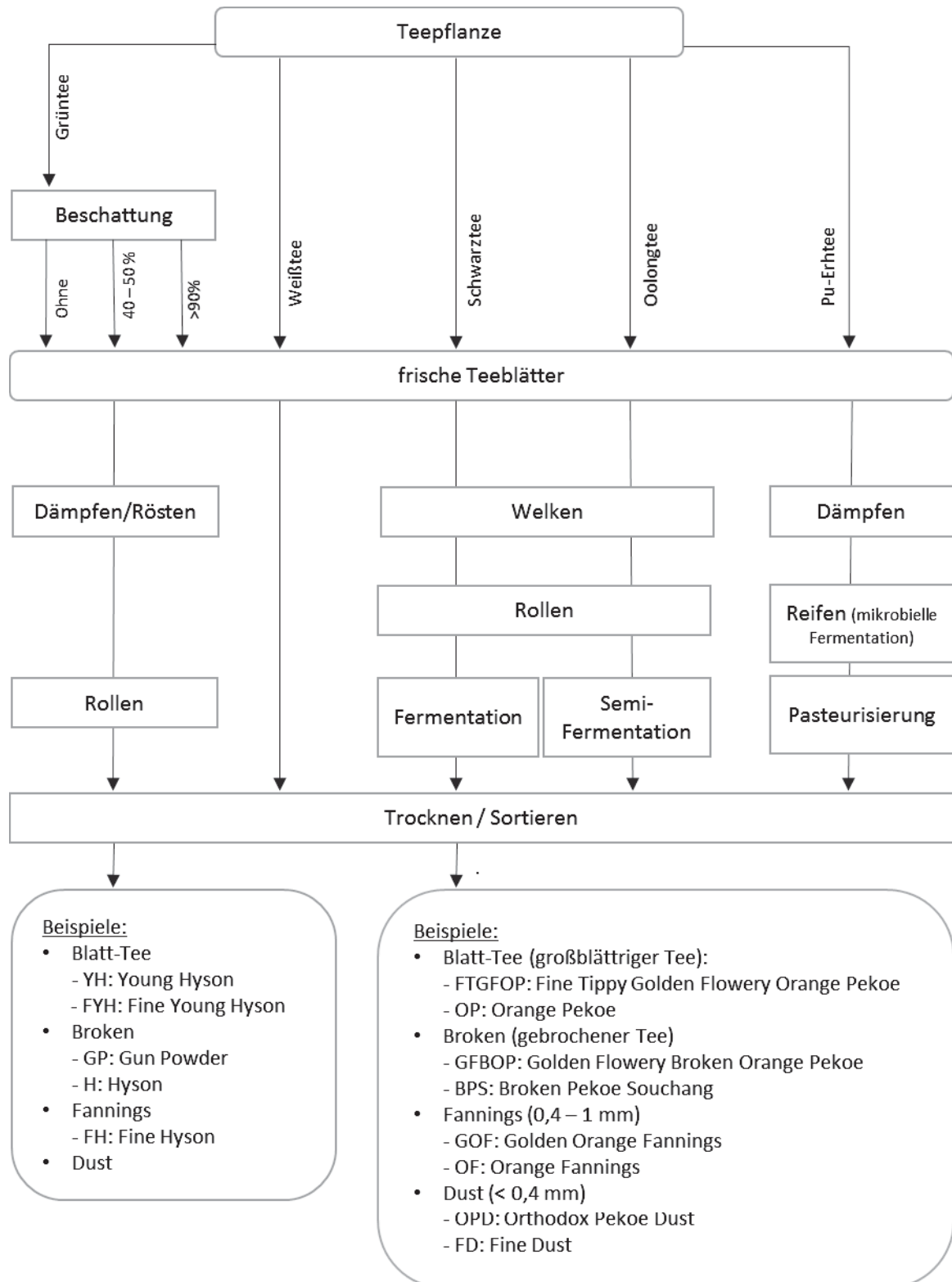


Abbildung 1: Herstellungsprozesse schwarzer und grüner Tees und einige Beispiele der Kennzeichnungen von Blattgrößen (TRA, 2015)

2.1.2 Zusammensetzung von Tee

Je nach der geographischen Herkunft des Ausgangsmaterials, den Anbaubedingungen, der Pflückperiode, der Pflückmethode, der gepflückten Teile des Teestrauches und dem Herstellungsverfahren, treten deutliche Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung des Endprodukts auf (Wickremasinghe, 1978; Lin et al., 1996; Lakenbrink, 2000; Lin et al., 2003; Belitz et al., 2008; Engelhardt, 2010; Wang et al., 2012; Jayasekera et al., 2014). Diese Unterschiede können sehr ausgeprägt sein, wie bei Pu-Erh Tee, bei dem durch die echte Fermentation sehr niedrige Gehalte an Polyphenolen, insbesondere an Catechinen, gefunden werden (Duh et al., 2004; Zhang et al., 2013). Im allgemeinen sind die Polyphenole, die bis zu 30% der Trockenmasse ausmachen können, die wichtigsten Komponenten, was sich auch in den zahlreichen Publikationen widerspiegelt (Hilal, 2010; Lakenbrink, 2000; Lin et al., 2003). Weitere interessante Verbindungen sind die Aminosäuren (u.a. Theanin, Glutaminsäure, Asparaginsäure und GABA) und die Alkaloide (Koffein, Theobromin und Theophyllin). Außerdem enthält Tee Enzyme, Lipide, Mineralstoffe, Carotinoide, Polysaccharide und flüchtige Verbindungen.

2.2 Polyphenole

Polyphenolische Verbindungen gehören zu den sekundären Pflanzenstoffen und kennzeichnen Verbindungen, die mindestens zwei aromatische Ringe mit jeweils mindestens einer OH-Gruppe enthalten (Clifford, 2004; Manach et al., 2004). Polyphenole besitzen wichtige Funktionen innerhalb der Pflanzen, z.B. als Farb-, Geschmacks- oder Geruchsstoffe oder als Abwehrstoffe gegen Schädlinge. Sie stimulieren auch Enzyme, regulieren das Wachstum der Pflanzen und schützen sie vor UV-Strahlung (Belitz et al., 2008). Im Tee sind diese Verbindungen von großer Bedeutung und tragen zu den zahlreichen physiologischen Effekten des Tees bei (Sajilata et al., 2008). Eine Klassifizierung der Polyphenole wurde anhand der Zahl der aromatischen Ringe und der Art der Verknüpfung zwischen diesen Ringen von Manach et al. (2004) beschrieben (Abbildung 2).

Grundlagen und Kenntnisstand

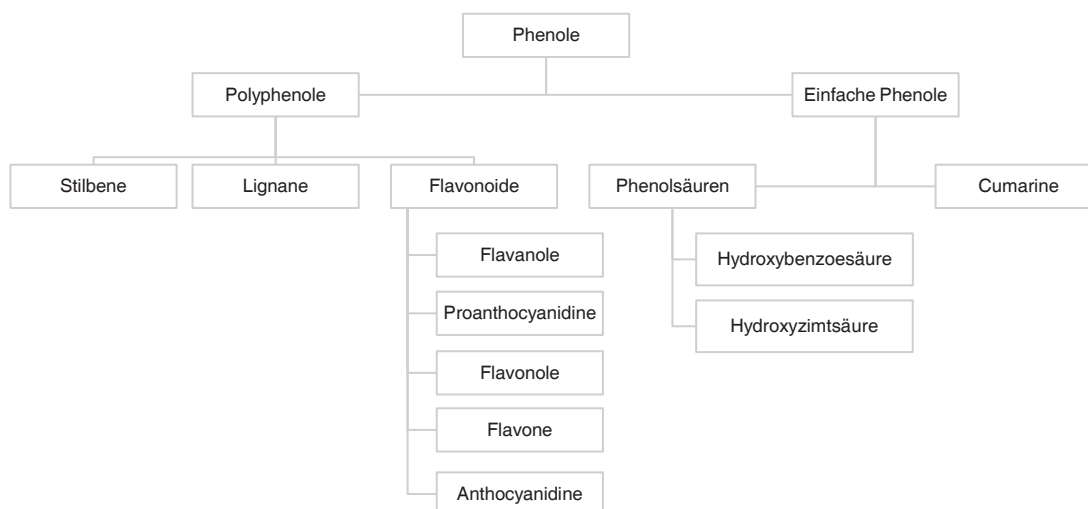


Abbildung 2: Einteilung der Polyphenole nach Manach et al. (2004) und Clifford (2004)

Eine Untergruppe der einfachen Phenole sind die Phenolsäuren, wie Hydroxyzimt- und Hydroxybenzoesäuren, die nur einen einzigen aromatischen Ring enthalten. Flavonoide stellen die umfangreichste und wichtigste Klasse unter den Phenolen dar. Sie sind eine Untergruppe der Polyphenole und umfassen viele Unterklassen, die durch Substitution der Grundstruktur mit funktionellen Gruppen entstehen. Abbildung 3 zeigt die charakteristische Grundstruktur der Flavonoide mit dem C6-C3-C6 Grundgerüst, in dem zwei aromatische Ringe (A und B) über den heterozyklischen Ring (C) verbunden sind (Forkmann & Heller, 1999).

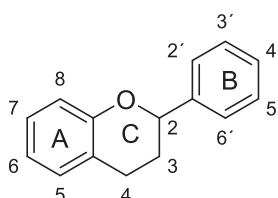


Abbildung 3: Grundgerüste der Flavonoide (2-Phenylbenzopyran)

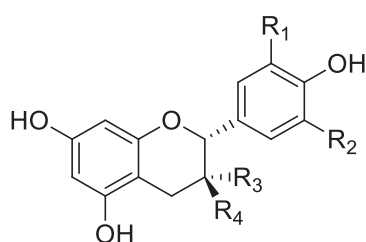
Die Hauptsubstituenten sind Hydroxylgruppen und Zuckerreste in glykosidischen Bindungen an C5 und C7 des A-Rings und C3 des C-Rings. Die Hauptvertreter im Tee sind die Flavanole und ihre Dimere/Oligomere (Proanthocyanidine), Flavonole, Flavanone und Flavone (Abb. 4-6).

Die Biosynthese erfolgt über den Shikimisäure- und den Polyketidweg (Acetatweg). Dabei entstehen aus dem Kohlenhydratstoffwechsel zunächst Phenylalanin und Acetyl-

CoA. Später reagiert die *p*-Cumarsäure (entstehend aus Phenylalanin) mit Malonyl-CoA (entstehend aus Acetyl-CoA) zu 2',4',6',4'-Tetrahydroxychalkon, woraus sich ein Flavanon ergibt (Forkmann & Heller, 1999). Dieses Produkt dient als Ausgangsverbindung für die weitere Synthese der Flavonoide durch verschiedene Enzyme. Phenylalanin-Ammoniak-Lyase (PAL) wandelt Phenylalanin in Zimtsäure um. Daneben ist die Leucoanthocyanidin-Reduktase ein sehr wichtiges Enzym. Dessen Aktivität korreliert mit der Flavanolkonzentration (Forkmann & Heller, 1999; Engelhardt, 2010). Eine Beschattung der Teepflanze beeinflusst die Aktivität der oben erwähnten Enzyme und somit die Biosynthese. Dies führt zur Abnahme der Flavonoide, insbesondere der Proanthocyanidine und Flavonol-O-glykoside. Im Gegensatz zu den Flavonoiden steigen die Konzentrationen der Phenolsäuren in den abgedeckten Blättern (Wang et al., 2012).

2.2.1 Flavanole (Catechine)

Catechine sind die wesentlichen phenolischen Verbindungen in grünen Teeblättern und machen bis 30% der Trockenmasse der frischen Blätter aus (Finger et al., 1992; Lapczynski, 2000; Obuchowicz et al., 2011; Savitri Kumar et al., 2009). Eine Korrelation zwischen dem Catechingehalt und der Qualität des Tees wurde beschrieben (Balentine et al., 1998). Zu den wichtigsten Teeflavanolen zählen (+)-Catechin (+C), (-)-Epicatechin (EC), (-)-Epigallocatechin (EGC), (-)-Epigallocatechingallat (EGCG) und (-)-Epicatechingallat (ECG), je nach Hydroxylierungsmuster der B- und C-Ringe. Die Summe der erwähnten Catechine wird oft als Catechingehalt des Tee bezeichnet (ISO 14502-2, 2005). Die Strukturformeln sind in Abbildung 4 dargestellt. Die 2,3-*trans* und 2,3-*cis* („epi-“) Verbindungen sind bei den Catechinen zu unterscheiden. Meist werden die Trivialnamen und nicht die IUPAC Nomenklatur benutzt. Der IUPAC Name für Epicatechin ist (2R,3R)-2-(3,4-Dihydroxyphenyl)chroman-3,5,7-triol.



Flavan-3-ol	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Epicatechin	OH	H	OH	H
Catechin	OH	H	H	OH
Epigallocatechin	OH	OH	OH	H
Gallocatechin	OH	OH	H	OH
Epigallocatechingallat	OH	OH	Galloyl	H
Epicatechingallat	OH	H	Galloyl	H
Epiafzelechin	H	H	OH	H
Afzelechin	H	H	H	OH

Abbildung 4: Chemische Strukturen der wichtigsten Flavan-3-ole

Catechine tragen zum bitteren, leicht adstringierenden Geschmack des grünen Tees bei (Chu & Juneja, 1997). Dies liegt an ihrer Eigenschaft, mit den Proteinen der Mundschleimhaut in Wechselwirkungen zu treten und an diese binden zu können (Peleg et al., 1999). Darüber hinaus wird ihnen eine Vielzahl der positiven physiologischen Effekte des Tees zugesprochen, u.a. die krebshemmende Wirkung (Punyasiri et al., 2004; Ramos et al., 2011).

Während der Catechingehalt in Weiß- und Grüntee am höchstens ist, gehen die Konzentrationen der Flavane im Lauf der Fermentation zurück. Die Reaktionsprodukte sind die charakteristischen Fermentationsprodukte, u.a. Theaflavine, Theaflavinsäuren, Bisflavane und Thearubigine. Somit weisen die meisten Schwarztees relativ niedrige Gehalte an allen Catechinen auf. Allerdings können die Gehalte z.B. in Darjeeling Tees in einem vergleichbarem Bereich wie beim Grüntee liegen, besonders die an EGCG und ECG (Engelhardt, 2010; Engelhardt, 1999c).

2.2.2 Proanthocyanidine

Proanthocyanidine, auch als kondensierte Tannine bezeichnet, bestehen aus 2 oder mehr Flavan-3-olen. Ihre Verknüpfung erfolgt dabei durch die interflavanoide Bindung zwischen C4→C8 oder C4→C6 (B-Typ), wie die Abbildung 5 zeigt, oder kann auch im A-Typ über eine zusätzliche Etherbrücke (C2→O7 oder C2→O5) entstehen. Sie sind die farblosen Vorstufen der Anthocyanidine, was ihnen den Namen „Pro“-anthocyanidine verleiht. Auf die Bildung der roten Anthocyanidine werden die Verfärbungen, die beim

Erwärmen der Proanthocyanidine mit saurer Lösung gefunden werden, zurückgeführt. Dabei kommt es zur Spaltung der Interflavonoidbindung, wodurch die terminale Einheit als Carbokation freigesetzt und anschließend durch Luftsauerstoff zu einem farbigen Anthocyanidin oxidiert wird. Proanthocyanidine werden durch den Polymerisationsgrad (2 bis 8 Flavan-3-ol-Einheiten: Oligomere; >8 Einheiten: Polymere) nach Guyot et al. (2001) oder durch die verknüpften Einheiten unterteilt (Esatbeyoglu, 2011). Procyanidine bestehen ausschließlich aus C und EC Einheiten. Hingegen enthalten Prodelphinidine mindestens ein EGC oder ein GC und Propelargonidine (epi-)Afzelechin Einheiten. Bei galloylierten Proanthocyanidinen trägt mindestens eine Einheit eine Gallatgruppe.

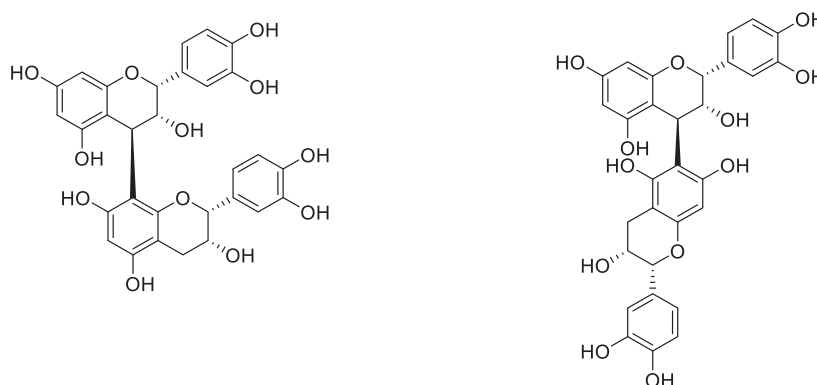


Abbildung 4: Chemische Struktur von zwei dimeren Procyanidinen Typ B

(links: EC-4 β -8-EC; rechts: EC-4 β -6-EC)

Proanthocyanidine tragen auch durch ihren Gerbstoffcharakter zur Adstringenz des Tees bei. Des Weiteren ist ihre Abwehr gegen die von dem Pilz *Exobasidium vexans* verursachte Infektion der Teeblätter beschrieben (Savitri Kumar et al., 2009). Weiterhin gibt es zahlreiche Literaturstellen, in denen positive Wirkungen von Proanthocyanidinen genannt werden, z.B. antibakterielle, antioxidative, blutdrucksenkende Wirkung, Radikalfängereigenschaften, und antiallergene Effekte (Bagchi et al., 2000; Fine, 2000; Foo et al., 2000; Yousef et al., 2009; Vetal et al., 2013). Der Gehalt an Proanthocyanidinen beträgt durchschnittlich im Grüntee 0.84% der Trockenmasse (Lakenbrink, 2000). Im schwarzen Tee ist diese Konzentration deutlich geringer, was vermutlich auf einen Abbau während des Oxidationsprozesses zurückzuführen ist (Engelhardt, 2010). Besonders betroffen sind die galloylierten Proanthocyanidine (Hashimoto et al., 1992).

2.2.3 Flavonolglykoside

Flavonole liegen im Tee überwiegend als Glykoside vor und machen bis zu ca. 2% der Trockenmasse der Teeblätter aus. In den Zuckerresten sind vor allem Glucose, Galactose, Rhamnose und seltener Fructose vorhanden (Finger et al., 1991). Die Existenz der Aglykone Myricetin, Quercetin und Kämpferol (Abb. 6) in freier Form hängt mit anderen Prozessen wie Trocknen zusammen (Lee et al., 2008). Allerdings deuten die Gehalte an Flavonolglykosiden in Schwarztee auf ihre hohe Stabilität während der Fermentation hin (Lakenbrink, 2000; Engelhardt, 2010). Charakteristische Triglykoside für Tee wie Quercetin- und Kämpferol-3-O-rhamnoglucoside und –glucorhamnogalactoside wurden beschrieben (Finger et al., 1991). Es wurde versucht, die Gehalte an Flavonolglykosiden zur Abgrenzung der Darjeeling Tees von anderen Tees zu nutzen (Winterstein & Finger, 1998). Neben den Flavanolen und den Proanthocyanidinen tragen auch die Flavonolglykoside zum adstringierenden Geschmack und den positiven Effekten des Tees bei.

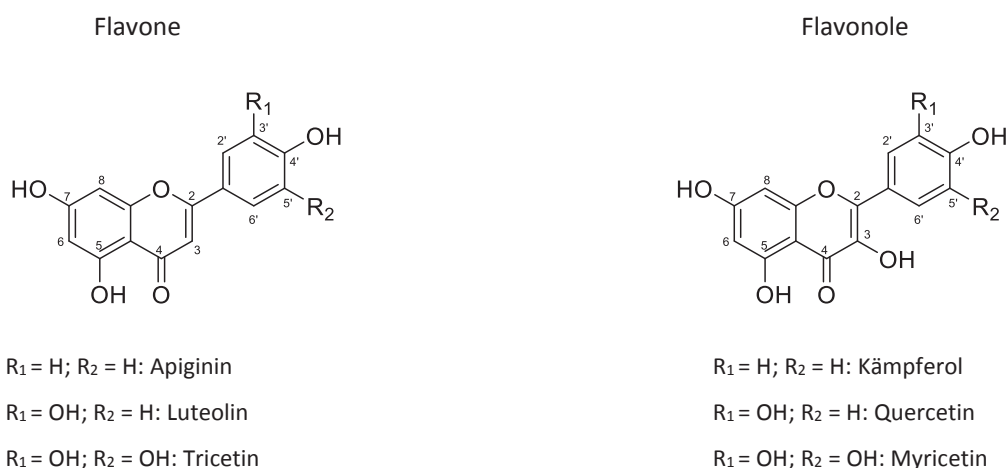


Abbildung 5: Chemische Struktur der Flavone und Flavonole

2.3 Purinalkaloide

Koffein (1,3,7-Trimethylxanthin) ist die dominierende Verbindung unter den Tee-Alkaloiden und macht zwischen 1,5 – 5% der Trockenmasse aus (Lapczynski, 2000). Während Theophyllin (1,3-Dimethylxanthin) einen Gehalt von 0,13 – 0,18% lediglich in der Knospe und dem ersten Blatt der Teepflanze aufweist (Chen et al., 2003), liegen die Gehalte an Theobromin (3,7-Dimethylxanthin) zwischen 0,1 – 0,49 % (Engelhardt, 2010;

Lapczynski, 2000). Die Biosynthese der N-methylierten Xanthine erfolgt direkt aus Zwischenprodukten des Nukleinsäuremetabolismus.

Koffein

Koffein wird in den Teeblättern synthetisiert (Chu & Juneja, 1997). Die Konzentration hängt von zahlreichen Faktoren ab, z.B. der Erntezeit oder der Verwendung stickstoffhaltiger Düngemittel, was eine Erhöhung von ca. 40% des Koffeingehaltes verursachen kann (Balentine et al., 1998). Koffein verleiht dem Tee seine beliebte anregende Wirkung und trägt zur Bitterkeit des Tees bei (Engelhardt, 2010). Durch die Lagerung der Tees nimmt die Koffeinkonzentration zu, was dem Tee einen sehr bitteren und unangenehmen Geschmack verleiht (Balentine et al., 1998)

2.4 Aminosäuren

Mehr als 26 Aminosäuren wurden im Tee nachgewiesen. Diese machen bis 4% der Trockenmasse des Tees aus (Thippeswamy et al., 2006; Tan et al., 2011). Auf diese Verbindungen entfällt die Hälfte des Stickstoffs in Tee (Chu & Juneja, 1997). Deshalb sind Aminosäuren, insbesondere Theanin, Asparagin und Glutamin, zur Speicherung und zum Transport des Stickstoffs in der Teepflanze wichtig (Feldheim, 2001). Aminosäuren (AS) übernehmen viele Aufgaben im Organismus. Proteinogene Aminosäuren, die im genetischen Code enthalten sind, sind die notwendigen Bausteine für die ribosomale Proteinbiosynthese und somit für die verschiedenen Funktionsklassen der Proteine, z.B. Enzyme, Antikörper, einige Hormone und Transportproteine wie Hämoglobin oder Transferrin. Im Tee spielen insbesondere Theanin und Glutaminsäure eine große Rolle. Sie sind für den Umami-Geschmack des Tees die wichtigsten verantwortlichen Substanzen (Ekborg-Ott et al., 1997; Tan et al., 2011; Kocadağlı et al., 2013). Darüber hinaus tragen die aus den Aminosäuren im Lauf der Fermentation durch den Strecker-Abbau entstandenen Aldehyde zum Aroma des fermentierten Tees bei. Hierbei wandelt sich z.B. Valin zum 2-Methylpropanal und Phenylalanin zum Phenylacetaldehyd um (Willson & Clifford, 1992). Auch das nach frischem Heu duftende Aroma des grünen Tees ist auf Aminosäuregehalt zurückzuführen (Feldheim, 2001).

Weiterhin wird eine Korrelation zwischen dem Gehalt an gesamten oder einzelnen Aminosäuren und der Teequalität beschrieben (Chu, 1997; Ding et al., 2002; Kato et al.,

2003; Alcázar et al., 2007). Bei Alcázar et al. (2007) wurde dieser Gehalt zur Abgrenzung von weißem, grünem und schwarzem Tee benutzt.

2.4.1 Aufbau, Nomenklatur und Strukturformeln

Ein Aminosäuremolekül besteht mindestens aus je einer basischen Aminogruppe (-NH₂) und einer sauren Carboxylgruppe (-COOH).

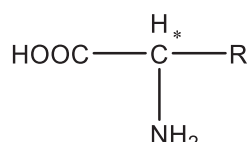


Abbildung 6: Allgemeine chemische Struktur eines α-Aminosäuremoleküls

An den α-AS (Abbildung 7) sind die Carboxyl- und Aminogruppe mit demselben Kohlenstoffatom verbunden. An diesem C-Atom befindet sich noch ein Rest. Durch die unterschiedlichen Reste entstehen die verschiedenen Gruppen von Aminosäuren. Die einfachste Aminosäure Glycin entsteht, wenn R=H ist. Weitere Trivialnamen, Symbole, und Formeln der in dieser Arbeit bestimmten Aminosäuren sind nach IUPAC (1984) in Tabelle 2-1 aufgeführt.

Aminosäuren werden nach den physikalisch-chemischen Eigenschaften als basisch, sauer, neutral, unpolar oder polar klassifiziert. Im Allgemeinen sind AS polare Moleküle, da sie mindestens zwei ionisierbare Gruppen enthalten. Je nach dem pH-Wert können die funktionellen Gruppen protoniert (als Kationen oder Anionen) oder deprotoniert vorliegen. Am isoelektrischen Punkt (IEP) liegt das Aminosäuremolekül mit einer Gesamtladung von null als Zwitterion vor. Am IEP ist damit die Wasserlöslichkeit am geringsten.

Aus ernährungsphysiologischer Sicht kann man zwischen essentiellen und nichtessentiellen Aminosäuren unterscheiden. Essentielle Aminosäuren müssen über die Nahrung zugeführt werden, da sie unser Körper nicht selbst synthetisieren kann.

Tab. 2-1: Namen, Symbole, und Formel der untersuchten Aminosäuren nach IUPAC (1984)

Trivialname	Symbol	Systematischer Name	Formel
Alanin	Ala A	2-Aminopropansäure	CH ₃ -CH(NH ₂)-COOH
Arginin	Arg R	2-Amino-5-guanidin-Pentansäure	H ₂ N-C(=NH)-NH-[CH ₂] ₃ -CH(NH ₂)-COOH