

INHALT

ABKÜRZUNGEN UND SYMBOLE	XIII
1 EINLEITUNG UND GRUNDLAGEN	1 -
1.1 TEE	1 -
1.1.1 Begriffsbestimmung und botanische Einordnung	1 -
1.1.2 Historie	3 -
1.1.3 Teekulturen	5 -
1.1.4 Wirtschaftsfaktor	6 -
1.1.5 Physiologische Wirkungen	7 -
1.2 VERARBEITUNG VON TEE	9 -
1.2.1 Grüner Tee	9 -
1.2.2 Schwarzer Tee	9 -
1.2.3 Weitere Teearten	13 -
1.2.4 Sortenvielfalt	14 -
1.3 INHALTSSTOFFE DES TEES	17 -
1.3.1 Nicht-polyphenolische Inhaltsstoffe	17 -
1.3.2 Polyphenole	19 -
1.3.2.1 <i>Definition und Klassifizierung</i>	19 -
1.3.2.2 <i>Flavonole, Flavone, Isoflavone, Flavanone und Anthocyanidine</i>	21 -
1.3.2.3 <i>Flavanole</i>	21 -
1.3.2.4 <i>Bildung von Schwarztee-Polyphenolen mittels enzymatisch katalysierter Oxidation</i>	23 -
1.3.2.5 <i>Thearubigene</i>	29 -
1.3.2.6 <i>Sonstige Oxidationsprodukte</i>	34 -
1.4 GEGENSTROMVERTEILUNGSCROMATOGRAPHIE	35 -
1.4.1 Prinzip und Grundlagen	35 -
1.4.2 Fließmittelsysteme	35 -
1.4.3 Die stationäre Phase	37 -
1.4.4 Hydrostatisches und hydrodynamisches Prinzip	37 -
1.4.5 Vor- und Nachteile	38 -
1.4.6 High-Speed Countercurrent Chromatography (HSCCC)	39 -

1.4.7	High-Performance Countercurrent Chromatography (HPCCC)	- 41 -
1.4.8	Spiral-Coil Low-Speed Rotary Countercurrent Chromatography (SCCCC)	- 42 -
2	ZIELSETZUNG	- 45 -
3	ERGEBNISSE UND DISKUSSION	- 47 -
3.1	MODELLOXIDATIONEN	- 47 -
3.1.1	Isolierung von Catechinen	- 47 -
3.1.1.1	<i>Isolierung mittels CCC</i>	- 47 -
3.1.1.2	<i>Weitere Aufreinigung</i>	- 50 -
3.1.2	Modellfermentationen mit endogenen Enzymen	- 53 -
3.1.2.1	<i>Ausgangslage</i>	- 53 -
3.1.2.2	<i>Bestimmung des Restphenolgehaltes im Teeblattmaterial</i>	- 53 -
3.1.2.3	<i>Bestimmung der Enzymaktivität im Teeblattmaterial</i>	- 55 -
3.1.2.4	<i>Das Modelloxidationssystem</i>	- 56 -
3.1.2.5	<i>Allgemeine Beobachtungen</i>	- 60 -
3.1.2.6	<i>Abbau von Flavanolen mit PPO und POD</i>	- 64 -
3.1.2.7	<i>Reaktionsprodukte mit PPO und POD</i>	- 65 -
3.1.2.8	<i>Einfluss von PPO und POD</i>	- 76 -
3.1.2.9	<i>Auswertung mittels HPLC-DAD-ESI-MSⁿ</i>	- 82 -
3.1.2.10	<i>Übersicht über die identifizierten Verbindungen und allgemeine Beobachtungen</i>	- 99 -
3.1.3	Modellfermentationen mit Meerrettich-POD und extrahierter Blattmatrix.....	- 102 -
3.1.3.1	<i>Oxidationen mit HR-POD</i>	- 102 -
3.1.3.2	<i>Zusatz einer Teeblattmatrix</i>	- 104 -
3.1.4	Oxidationen ohne Enzyme.....	- 118 -
3.2	FRAKTIONIERUNG UND ISOLIERUNG VON THEARUBIGENEN	- 124 -
3.2.1	Vergleich verschiedener Methoden	- 124 -
3.2.1.1	<i>Roberts'-Fraktionierung</i>	- 124 -
3.2.1.2	<i>Coffein-Fällung</i>	- 124 -
3.2.1.3	<i>Isolierung mittels XAD-7 und HSCCC</i>	- 127 -
3.2.1.4	<i>Vergleichsparameter</i>	- 127 -
3.2.1.5	<i>Vergleich</i>	- 130 -
3.2.2	Weiterentwicklung der CCC-Methode.....	- 134 -

3.2.2.1	<i>Spiral-Coil CCC</i>	- 134 -
3.2.2.2	<i>Weiterentwicklung der HSCCC-Methode</i>	- 136 -
3.2.2.3	<i>Zusätzliche Trennung mittels HPCCC</i>	- 138 -
3.2.2.4	<i>Farbintensität</i>	- 143 -
3.2.3	<i>Zusammenfassung Thearubigen-Isolierung</i>	- 144 -
3.3	<i>LAGERVERSUCHE</i>	- 146 -
3.3.1	<i>Einfluss der Temperatur</i>	- 150 -
3.3.2	<i>Einfluss des pH-Wertes</i>	- 152 -
3.3.3	<i>Einfluss von Additiven (Ascorbinsäure, Ethylparaben, Helium)</i>	- 154 -
3.3.4	<i>Weitere Beobachtungen</i>	- 156 -
4	<i>ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK</i>	- 159 -
5	<i>MATERIAL UND METHODEN</i>	- 163 -
5.1	<i>TEEMATERIAL</i>	- 163 -
5.2	<i>CHEMIKALIEN UND LÖSUNGSMITTEL</i>	- 164 -
5.3	<i>GERÄTE UND PARAMETER</i>	- 166 -
5.3.1	<i>Hochleistungsflüssigkeitschromatographie</i>	- 166 -
5.3.1.1	<i>HPLC-DAD</i>	- 166 -
5.3.1.2	<i>Ultra-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (UHPLC-DAD)</i>	- 169 -
5.3.1.3	<i>Präparative HPLC (PräpHPLC-DAD)</i>	- 170 -
5.3.1.4	<i>Massenspektrometrie (HPLC-DAD-ESI-MSⁿ)</i>	- 170 -
5.3.2	<i>Gegenstromverteilungschromatographie</i>	- 172 -
5.3.2.1	<i>High-Speed Countercurrent Chromatography (HSCCC)</i>	- 172 -
5.3.2.2	<i>Spiral-Coil Low Speed Rotary Countercurrent Chromatography (SCCCC)</i>	- 174 -
5.3.2.3	<i>High-Performance Countercurrent Chromatography (HPCCC)</i>	- 175 -
5.3.3	<i>Säulenchromatographie</i>	- 176 -
5.3.3.1	<i>Amberlite XAD-7</i>	- 176 -
5.3.3.2	<i>Sephadex LH-20</i>	- 176 -
5.3.4	<i>Photometrie</i>	- 177 -
5.3.5	<i>Zentrifugation</i>	- 177 -
5.3.6	<i>Rotationsverdampfung</i>	- 177 -
5.3.7	<i>Temperierung</i>	- 177 -

5.3.7.1	<i>Modelloxidationen</i>	- 177 -
5.3.7.2	<i>Extraktion von Flavanolen</i>	- 178 -
5.3.7.3	<i>Lagerversuche</i>	- 178 -
5.3.8	pH-Wert-Bestimmung	- 178 -
5.3.9	Langzeitextraktion	- 178 -
5.3.10	Magnetrührer.....	- 178 -
5.3.11	Vortexer	- 178 -
5.4	METHODEN	- 179 -
5.4.1	Allgemeine Methoden	- 179 -
5.4.1.1	<i>Bestimmung von Catechinen und Gallussäure mittels HPLC-DAD</i>	- 179 -
5.4.1.2	<i>Bestimmung von Theaflavinen mittels HPLC-DAD</i>	- 180 -
5.4.1.3	<i>Bestimmung von Theaflavinen mittels UHPLC-DAD</i>	- 181 -
5.4.1.4	<i>Abschätzung des Thearubigengehaltes mittels HPLC-DAD</i>	- 181 -
5.4.1.5	<i>Analyse von Schwarztee-Extrakten mittels HPLC-DAD an einer Diol-Phase</i>	- 182 -
5.4.1.6	<i>Bestimmung des Gesamtpolyphenolgehaltes nach Folin-Ciocalteu</i>	- 182 -
5.4.1.7	<i>Bestimmung der Farbintensität</i>	- 182 -
5.4.1.8	<i>Herstellung von XAD-7-Extrakten</i>	- 183 -
5.4.1.9	<i>Ermittlung geeigneter Lösungsmittelsysteme für die CCC</i>	- 183 -
5.4.2	Isolierung von Thearubigenen	- 184 -
5.4.2.1	<i>Roberts'-Fraktionierung</i>	- 184 -
5.4.2.2	<i>Coffein-Fällung</i>	- 185 -
5.4.2.3	<i>Isolierung mittels XAD-7 und HSCCC</i>	- 186 -
5.4.2.4	<i>Erweiterte Methode mittels HSCCC und HPCCC</i>	- 186 -
5.4.3	Isolierung von Catechinen	- 187 -
5.4.3.1	<i>Isolierung und Anreicherung von Catechinen mittels HSCCC</i>	- 187 -
5.4.3.2	<i>Aufreinigung von EGC an Sephadex LH-20</i>	- 187 -
5.4.4	Modelloxidationen mit PPO und POD aus <i>C. sinensis</i>	- 188 -
5.4.4.1	<i>Herstellung des polyphenolfreien Teeblattmaterials</i>	- 188 -
5.4.4.2	<i>Bestimmung des Restpolyphenolgehaltes</i>	- 188 -
5.4.4.3	<i>Bestimmung der Enzymaktivität im Teeblattmaterial</i>	- 189 -
5.4.4.4	<i>Durchführung der Modelloxidationen</i>	- 191 -

5.4.5	Modellfermentationen mit Meerrettich-Peroxidase.....	- 193 -
5.4.5.1	Herstellung der Blattmatrix.....	- 193 -
5.4.5.2	Bestimmung des Restpolyphenolgehaltes in der Blattmatrix	- 193 -
5.4.5.3	Bestimmung der Enzymaktivität der HR-POD	- 193 -
5.4.5.4	Durchführung der Modelloxidation mit HR-POD und/oder Blattmatrix.....	- 193 -
5.4.6	Modelloxidationen ohne Enzyme	- 194 -
5.4.7	Lagerversuche	- 195 -
6	LITERATUR.....	- 197 -
7	ANHANG.....	- 217 -
7.1	HSCCC-TRENNUNGEN ZUR ISOLIERUNG VON THEARUBIGENEN.....	- 217 -
7.1.1	Isolierung mit HSCCC_System 6 (EtOAc/n-BuOH/H ₂ O im Tail-to-Head-Modus)	- 217 -
7.1.2	Isolierung mit HSCCC_System 7 (n-BuOH/H ₂ O im Tail-to-Head-Modus)	- 218 -
7.2	HSCCC-TRENNUNGEN ZUR ANREICHERUNG VON CATECHINEN	- 219 -
7.3	UV-SPEKTREN CHARAKTERISTISCHER TEEBESTANDTEILE	- 220 -
7.4	VERWENDETE CHARGEN DES TEEBLATTPULVERS MIT AKTIVEN ENZYmen	- 222 -
7.5	BESTIMMUNG VON THEAFLAVINEN MITTELs UHPLC.....	- 222 -
7.6	VERSUCHSPARAMETER DER OXIDATIONEN MIT MEERRETTICH-PEROXIDASE	- 224 -
7.7	LAGERVERSUCHE	- 225 -