



Technische
Universität
Braunschweig



Polyphenole in schwarzem Tee (*Camellia sinensis*)

—

Modelloxidationen, Lagerversuche und Fraktionierung von Thearubigenen

Ulf Wilhelm Stodt



Cuvillier Verlag Göttingen
Internationaler wissenschaftlicher Fachverlag



Polyphenole in schwarzem Tee (*Camellia sinensis*) — Modelloxidationen,
Lagerversuche und Fraktionierung von Thearubigenen





Polyphenole in schwarzem Tee (*Camellia sinensis*)

—

Modelloxidationen, Lagerversuche und Fraktionierung von Thearubigenen

Von der Fakultät für Lebenswissenschaften

der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina

zu Braunschweig

zur Erlangung des Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

genehmigte

D i s s e r t a t i o n

von Ulf Wilhelm Stodt

aus Bonn



Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

1. Aufl. - Göttingen: Cuvillier, 2016

Zugl.: (TU) Braunschweig, Univ., Diss., 2015

| | |
|-------------------------------------|--------------------------------------|
| 1. Referent: | apl. Professor Dr. Ulrich Engelhardt |
| 2. Referent: | Professor Dr. Peter Winterhalter |
| eingereicht am: | 14.10.2015 |
| mündliche Prüfung (Disputation) am: | 04.12.2015 |

Druckjahr 2016

Dissertation an der Technischen Universität Braunschweig,
Fakultät für Lebenswissenschaften

© CUVILLIER VERLAG, Göttingen 2016

Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen

Telefon: 0551-54724-0

Telefax: 0551-54724-21

www.cuvillier.de

Alle Rechte vorbehalten. Ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages ist es nicht gestattet, das Buch oder Teile daraus auf fotomechanischem Weg (Fotokopie, Mikrokopie) zu vervielfältigen.

1. Auflage, 2016

Gedruckt auf umweltfreundlichem, säurefreiem Papier aus nachhaltiger Forstwirtschaft.

ISBN 978-3-7369-9196-5

eISBN 978-3-7369-8196-6



VORVERÖFFENTLICHUNGEN DER DISSERTATION

Teilergebnisse aus dieser Arbeit wurden mit Genehmigung der Fakultät für Lebenswissenschaften, vertreten durch den Mentor der Arbeit, in folgenden Beiträgen vorab veröffentlicht:

Publikationen

Stodt, U. W., Stark, J. & Engelhardt, U. H. Comparison of three strategies for the isolation of black tea thearubigins with a focus on countercurrent chromatography. *Journal of Food Composition and Analysis* 43: 160–168 (2015). DOI: 10.1016/j.jfca.2015.07.002

Stodt, U. W., Werian, A. & Engelhardt, U. H. Schwarzteeherstellung: Oxidationsreaktionen – Ansätze zur Durchführung von Modelloxidationen mit tee eigenen und -fremden Enzymen sowie Beobachtung eines Matrixeffektes. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 111: 6–12 (2015).

Stodt, U. W., Blauth, N., Niemann, S., Stark, J., Pawar, V., Jayaraman, S., Koek, J. & Engelhardt, U. H. Investigation of Processes in Black Tea Manufacture through Model Fermentation (Oxidation) Experiments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62: 7854–7861 (2014). DOI: 10.1021/jf501591j

Stodt, U. & Engelhardt, U. H. Progress in the analysis of selected tea constituents over the past 20 years. *Food Research International* 53: 636–648 (2013). DOI: 10.1016/j.foodres.2012.12.052

Tagungsbeiträge

Stodt, U. W., Werian, A. & Engelhardt, U. H.: Untersuchung eines Matrixeffektes von Teeblättern (*Camellia sinensis*) auf Fermentationsvorgänge. (Poster) 43. Deutscher Lebensmittelchemikertag Gießen, Gesellschaft Deutscher Chemiker, Frankfurt am Main (ISBN 978-3-936028-87-4) Kurzreferate, p. 228 (ATW 076) (2014).

Stodt, U. W., Niemann, S. & Engelhardt, U. H.: Stability of Black Tea Thearubigins under various Conditions. (Poster) 5. Braunschweiger Jungchemikertagung, JungChemikerForum der Gesellschaft Deutscher Chemiker, Braunschweig, p. 58 (2014).

Stodt, U. W., Blauth, N., Niemann, S. & Engelhardt, U. H.: Entwicklung eines Systems zur Durchführung von Modellfermentationen mit *Camellia sinensis* (Tee). (Poster) 42. Deutscher Lebensmittelchemikertag Braunschweig, Gesellschaft Deutscher Chemiker, Frankfurt am Main (ISBN 978-3-936028-80-5) Kurzreferate, p. 238 (ATW 068) (2013).



Stodt, U. W., Stark, J. & Engelhardt, U. H.: Insights into Black Tea Chemistry through Model Fermentations. (Poster) 6th World Congress on Polyphenols Applications Paris, Frankreich, International Society of Antioxidants in Nutrition and Health (ISBN 978-2-35609-062-1) p. 87 (2012).

Stodt, U. W. & Engelhardt U. H.: Applications of High-Speed Countercurrent Chromatography in Thearubigin Research. (Vortrag) Symposium on Analysis and Chemistry of Tea and Coffee, Jacobs University Bremen (2011).



DANKSAGUNG

Ich danke Herrn Prof. Dr. Ulrich H. Engelhardt sehr herzlich für die freundliche Aufnahme in seinen Arbeitskreis und das entgegengebrachte Vertrauen. Durch die vielen Freiheiten, die angenehme Arbeitsatmosphäre und die stete Ansprechbarkeit hat mir das Arbeiten großen Spaß gemacht. Zudem bin ich sehr dankbar dafür, die Möglichkeit erhalten zu haben, durch Reisen nach Frankreich und Indien meinen Horizont auch über fachliche Themen hinaus zu erweitern.

Herrn Prof. Dr. Peter Winterhalter danke ich für die freundliche Unterstützung bereits während des Studiums und die Mitwirkung als Referent in der Prüfungskommission. Für die Übernahme des Vorsitzes der Prüfungskommission danke ich Herrn Prof. Dr. Robert Kreuzig.

Der Firma Unilever danke ich für die Finanzierung und Begleitung des Projektes, insbesondere Dr. Sujatha Jayaraman sowie Dr. Jan Koek für die hilfreiche Unterstützung meiner Arbeit. Darüber hinaus danke ich Deepak Mhasavade, Vikas Pawar, Raghav Reddy und Prof. Dr. Nikolai Kuhnert.

Ein herzlicher Dank gebührt Janina Stark, Nadine Blauth, Steffi Niemann und Anne Weirian für die gute Zusammenarbeit und die wertvollen Beiträge, die sie im Rahmen ihrer Diplomarbeiten geleistet haben.

André H. Janßen danke ich für den tadellosen Korrekturleseservice. Ebenso bin ich Frau Carola Balcke für die Durchsicht des Quellenverzeichnisses und das Korrekturlesen meiner Veröffentlichungen sehr dankbar.

Der erfolgreiche Abschluss dieser Arbeit wäre außerdem nicht vorstellbar gewesen ohne die kollegiale Atmosphäre im Institut, die lebenserhaltende Versorgung mit Kuchen und manch anderen Leckereien, die netten Gespräche und außeruniversitären Aktivitäten sowie die entstandenen Freundschaften.

- Besonders hervorheben möchte ich meine Mitstreiter im Teelabor: Beate Maiwald, Christian Laue, Nils Kaiser, Rouba Horanni, David Birkholz, Claudia Thräne, Janina Stark, Claas Isemer, Brigitta Balling und Patricia Staps.
- Dank gebührt außerdem folgenden (z. T. ehemaligen) Institutsmitgliedern und -gästen: Gerold Jerz, Marita Baum, Fabian Weber, Christian Bork (ohne Deine täglichen überlangen E-Mails wäre ich allerdings mindestens ein Jahr früher fertig geworden), Sebastian Tolle, Kristin Voiges, Marcela Castro Benitez (u. a. für die hervorragende Reiseorganisa-



tion in Kolumbien), Miriam Rodriguez-Werner, Recep Gök, Annika Burmeister (für die Einblicke in die finnische Trinkkultur), Marko Rother (unseren Fußball-Erfolgstrainer), Daniela Cichosch, Julia Cuers, Stefanie Kuhnert, Bettina Klose, Mariana Neves-Vieira, Michaela Schafberg, Hauke Zinow, Eva Schmalfuß, Margret Brüggemann, Anne-Katrin Tschira, Philipp Ewald, Emmanuel Letsyo, Matthias Bol, Franziska Steingaß/ss, Josi Ostberg, Shipra Nagar, Qimeng Zhang, Heyuan Jiang, Junfeng Tan, Payam Hashemi und Felipe Jimenez Aspée.

Ein ganz besonders herzliches Dankeschön möchte ich meiner Familie, v.a. meinen Eltern, für die vielseitige Unterstützung aussprechen, die Ihr mir zu jeder Zeit entgegengebracht habt. Kleine Schwester, kleiner Bruder: Besten Dank für die vielen heiteren Stunden, mit denen Ihr mein Leben sehr bereichert habt!

Johanna, Dir kann ich gar nicht genug danken. Für Deine Hilfe, die Unterstützung und das Verständnis. Ich bin glücklich, dass Du stets an meiner Seite warst!

Es war eine tolle Zeit, auf die ich immer gerne zurückblicken werde. Vielen Dank dafür!



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>Flavonole</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 | Isolierung mittels CCC | - 47 - |
| 3.1.1.2 | Weitere Aufreinigung | - 50 - |
| 3.1.2 | Modellfermentationen mit endogenen Enzymen | - 53 - |
| 3.1.2.1 | Ausgangslage | - 53 - |
| 3.1.2.2 | Bestimmung des Restphenolgehaltes im Teeblattmaterial | - 53 - |
| 3.1.2.3 | Bestimmung der Enzymaktivität im Teeblattmaterial | - 55 - |
| 3.1.2.4 | Das Modelloxidationssystem | - 56 - |
| 3.1.2.5 | Allgemeine Beobachtungen | - 60 - |
| 3.1.2.6 | Abbau von Flavanolen mit PPO und POD | - 64 - |
| 3.1.2.7 | Reaktionsprodukte mit PPO und POD | - 65 - |
| 3.1.2.8 | Einfluss von PPO und POD | - 76 - |
| 3.1.2.9 | Auswertung mittels HPLC-DAD-ESI-MS ⁿ | - 82 - |
| 3.1.2.10 | Übersicht über die identifizierten Verbindungen und allgemeine Beobachtungen | - 99 - |
| 3.1.3 | Modellfermentationen mit Meerrettich-POD und extrahierter Blattmatrix | - 102 - |
| 3.1.3.1 | Oxidationen mit HR-POD | - 102 - |
| 3.1.3.2 | Zusatz einer Teeblattmatrix | - 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 | Roberts'-Fraktionierung | - 124 - |
| 3.2.1.2 | Coffein-Fällung | - 124 - |
| 3.2.1.3 | Isolierung mittels XAD-7 und HSCCC | - 127 - |
| 3.2.1.4 | Vergleichsparameter | - 127 - |
| 3.2.1.5 | Vergleich | - 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 | Zusammenfassung Thearubigen-Isolierung | - 144 - |
| 3.3 | LAGERVERSUCHE | - 146 - |
| 3.3.1 | Einfluss der Temperatur | - 150 - |
| 3.3.2 | Einfluss des pH-Wertes | - 152 - |
| 3.3.3 | Einfluss von Additiven (Ascorbinsäure, Ethylparaben, Helium) | - 154 - |
| 3.3.4 | Weitere Beobachtungen | - 156 - |
| 4 | ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK | - 159 - |
| 5 | MATERIAL UND METHODEN | - 163 - |
| 5.1 | TEEMATERIAL | - 163 - |
| 5.2 | CHEMIKALIEN UND LÖSUNGSMITTEL | - 164 - |
| 5.3 | GERÄTE UND PARAMETER | - 166 - |
| 5.3.1 | Hochleistungsflüssigkeitschromatographie | - 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 | Gegenstromverteilungschromatographie | - 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 | Säulenchromatographie | - 176 - |
| 5.3.3.1 | <i>Amberlite XAD-7</i> | - 176 - |
| 5.3.3.2 | <i>Sephadex LH-20</i> | - 176 - |
| 5.3.4 | Photometrie | - 177 - |
| 5.3.5 | Zentrifugation | - 177 - |
| 5.3.6 | Rotationsverdampfung | - 177 - |
| 5.3.7 | Temperierung | - 177 - |



| | | |
|---------|--|---------|
| 5.3.7.1 | Modelloxidationen | - 177 - |
| 5.3.7.2 | Extraktion von Flavanolen..... | - 178 - |
| 5.3.7.3 | Lagerversuche | - 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 | Bestimmung von Catechinen und Gallussäure mittels HPLC-DAD | - 179 - |
| 5.4.1.2 | Bestimmung von Theaflavinen mittels HPLC-DAD | - 180 - |
| 5.4.1.3 | Bestimmung von Theaflavinen mittels UHPLC-DAD..... | - 181 - |
| 5.4.1.4 | Abschätzung des Thearubingehaltes mittels HPLC-DAD..... | - 181 - |
| 5.4.1.5 | Analyse von Schwarztee-Extrakten mittels HPLC-DAD an einer Diol-Phase..... | - 182 - |
| 5.4.1.6 | Bestimmung des Gesamtpolyphenolgehaltes nach Folin-Ciocalteu | - 182 - |
| 5.4.1.7 | Bestimmung der Farbintensität | - 182 - |
| 5.4.1.8 | Herstellung von XAD-7-Extrakten | - 183 - |
| 5.4.1.9 | Ermittlung geeigneter Lösungsmittelsysteme für die CCC | - 183 - |
| 5.4.2 | Isolierung von Thearubigenen | - 184 - |
| 5.4.2.1 | Roberts'-Fraktionierung | - 184 - |
| 5.4.2.2 | Coffein-Fällung..... | - 185 - |
| 5.4.2.3 | Isolierung mittels XAD-7 und HSCCC | - 186 - |
| 5.4.2.4 | Erweiterte Methode mittels HSCCC und HPLCCC..... | - 186 - |
| 5.4.3 | Isolierung von Catechinen | - 187 - |
| 5.4.3.1 | Isolierung und Anreicherung von Catechinen mittels HSCCC | - 187 - |
| 5.4.3.2 | Aufreinigung von EGC an Sephadex LH-20..... | - 187 - |
| 5.4.4 | Modelloxidationen mit PPO und POD aus <i>C. sinensis</i> | - 188 - |
| 5.4.4.1 | Herstellung des polyphenolfreien Teeblattmaterials | - 188 - |
| 5.4.4.2 | Bestimmung des Restpolyphenolgehaltes | - 188 - |
| 5.4.4.3 | Bestimmung der Enzymaktivität im Teeblattmaterial | - 189 - |
| 5.4.4.4 | Durchführung der Modelloxidationen..... | - 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/ <i>n</i> -BuOH/H ₂ O im Tail-to-Head-Modus) | - 217 - |
| 7.1.2 | Isolierung mit HSCCC_System 7 (<i>n</i> -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 - |





ABKÜRZUNGEN UND SYMBOLE

| | |
|----------------|--|
| (+)-C | (+)-Catechin |
| ACN | Acetonitril |
| AcOH | Essigsäure |
| Asc | L(+)-Ascorbinsäure |
| BFF | Benzofuran-Ring-Forming-Fragmentation |
| c | Konzentration |
| CCC | Countercurrent Chromatography (Gegenstromverteilungschromatographie) |
| CG | (+)-Catechingallat |
| DehydroTS | Dehydrotheasinensin |
| EC | (-)-Epicatechin |
| ECQ | (-)-Epicatechin- <i>o</i> -chinon |
| ECG | (-)-Epicatechin-3- <i>O</i> -gallat |
| EGC | (-)-Epigallocatechin |
| EGCG | (-)-Epigallocatechin-3- <i>O</i> -gallat |
| EP | Ethylparaben (4-Hydroxybenzoesäureethylester) |
| ESI | Elektronen-Spray-Ionisation |
| EtOAc | Essigsäureethylester |
| FCG | Flavon-Glycoside |
| FOG | Flavonol-Glycoside |
| GC | (+)-Gallocatechin |
| GCG | (+)-Gallocatechin-3- <i>O</i> -gallat |
| GS | Gallussäure |
| HPCCC | High-Performance Countercurrent Chromatography (Hochleistungs-Gegenstromverteilungschromatographie) |
| HPLC | High-Performance Liquid Chromatography (Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie) |
| HRF | Heterocyclic-Ring-Fragmentation |
| HSCCC | High-Speed Countercurrent Chromatography (Hochgeschwindigkeits-Gegenstromverteilungschromatographie) |
| H-t-T | Head-to-Tail |
| i. D. | innerer Durchmesser |
| i. Tr. | in der Trockenmasse |
| <i>i</i> -BuOH | 2-Methylpropan-1-ol (<i>iso</i> -Butanol) |
| LC | Liquid Chromatography (Flüssigkeitschromatographie) |
| MeOH | Methanol |
| MS | Massenspektrometrie |
| n | Anzahl der Messwerte |
| <i>n</i> -BuOH | Butan-1-ol (<i>n</i> -Butanol) |
| NP | Normal phase (Normalphase) |
| <i>n</i> -PrOH | 1-Propanol |
| R | Korrelationskoeffizient |
| RDA | Retro-Diels-Alder-Reaktion |



| | |
|---------|--|
| RP | reversed phase (Umkehrphase) |
| rpm | Rotationen pro Minute |
| RT | Raumtemperatur |
| Rt | Retentionszeit |
| SCCC | Spiral-Coil Low-Speed Rotary Countercurrent Chromatography |
| SD | Standard deviation (Standardabweichung) |
| Std | Stunde(n) |
| tBME | <i>tert</i> -Butylmethylether |
| Temp. | Temperatur |
| TF | Theaflavin |
| TF-3'-G | Theaflavin-3'- <i>O</i> -gallat |
| TF-3-G | Theaflavin-3- <i>O</i> -gallat |
| TF-DG | Theaflavin-3,3'- <i>O</i> -digallat |
| TFs | Theaflavine (Oberbegriff für die Substanzklasse) |
| TG | Theogallin |
| TRs | Thearubigene |
| TS | Theasinensin |



„Wenn wi keen Tee hebben, muten wi starben.“

Friesisches Sprichwort



1 Einleitung und Grundlagen

1.1 Tee

1.1.1 Begriffsbestimmung und botanische Einordnung

Als Tee werden umgangssprachlich fast alle Getränke bezeichnet, welche durch einen heißen, wässrigen Aufguss getrockneter Pflanzenteile wie z. B. Kamillenblüten oder Pfefferminzblätter hergestellt werden. Tee im eigentlichen Sinne stammt „ausschließlich aus Blättern, Blattknospen und zarten Stielen des Teestrauches *Camellia sinensis* L. O. Kuntze aus der Familie der Teegewächse (Theaceen), die nach den üblichen Verfahren bearbeitet sind“.¹ Bei Aufgussgetränken aus anderen Pflanzen wie Kräutern und Früchten handelt es sich dagegen um „teeähnliche Erzeugnisse“.¹ In anderen Sprachen wird dieser Unterscheidung durch eigene Terminologien Rechnung getragen (z. B. Spanisch: té ↔ infusión). Der in europäischen Sprachen zumeist ähnliche Begriff für „Tee“ entstammt der südostchinesischen Dialektbezeichnung „te“ oder „tay“. In (Südost-)Asien, Indien, Russland, der Türkei sowie der arabischen Welt haben sich dagegen Abwandlungen des südchinesischen Ausdruckes „ch’a“ durchgesetzt.²



Abb. 1–1 Links: Farblithographie eines Zweiges von *Camellia sinensis* var. *sinensis* mit charakteristischen Merkmalen, 1–blühender Zweig, 2–Blüte im Längsschnitt, 3–Fruchtknoten im Querschnitt, 4–Stempel mit Kelch, 5–Staubgefäß, 6–Samen, 7–reife Frucht (verändert nach KÖHLER, 1897).³ Rechts oben: Fotografie einer Blüte (Braunschweig, 2014). Rechts unten: Fotografie einer Frucht (Kerala, Indien, 2013).

Einleitung und Grundlagen

C. sinensis (**Abb. 1–1**) ist im asiatischen Bergland heimisch, die genaue Herkunft ist jedoch nicht bekannt. Es handelt sich um einen stark verzweigten Strauch, der in freier Natur bis auf Baumhöhe (6–15 m) heranwächst. Dieser ist immergrün, mit dunkelgrünen, ledrig-glänzenden und länglichen Blättern, welche einen gezackten Rand aufweisen. Aus den weißen, angenehm riechenden Blüten gehen nach Fremdbestäubung ungenießbare Früchte mit 1–3 Samen hervor. Die Vermehrung kann über Samen oder Stecklinge erfolgen. Allgemein wird zwischen zwei Varietäten unterschieden, der chinesischen Teepflanze *C. sinensis* var. *sinensis* und der indischen Teepflanze *C. sinensis* var. *assamica*. Die chinesische Varietät unterscheidet sich durch kleinere Blätter und eine niedrigere Wuchshöhe sowie eine geringere Empfindlichkeit gegenüber Umwelteinflüssen wie Frost und Trockenheit von der indischstämmigen Pflanze.⁴⁻⁵ In Kultur werden hauptsächlich Hybride der beiden Varietäten einge-



Abb. 1–2 Blick auf eine Teeplantage (Kolukkumalai Tea Estate, Tamil Nadu, Indien, 2013).

setzt. Damit die nachwachsenden Sprosse bequem geerntet werden können, werden diese als etwa hüfthohe Sträucher gehalten. Anbau und Ernte erfolgen in (sub-)tropischen Klimazonen ganzjährig und oft in höheren Lagen bis ca. 2500 m (**Abb. 1–2**). In Regionen, in denen die Durchschnittstemperatur im Winter deutlich unter 20 °C fällt, wird der Tee nur in den wärmeren Monaten geerntet. Die Hauptanbaugebiete liegen in Asien (China, Indien, Sri Lanka, Indonesien, Taiwan, Vietnam und Japan) sowie in Afrika (Kenia, Malawi), weniger in Südamerika (Argentinien), das sich traditionell auf die Produktion von Kaffee konzentriert.⁵⁻⁶

Aufgrund der klimatischen Bedingungen und der hohen Lohnkosten ist ein rentabler Anbau von *C. sinensis* in Europa nur bedingt möglich. Zwei etablierte Anbaugebiete sind jedoch in



Einleitung und Grundlagen

der europäischen Peripherie zu finden, zum einen in der Türkei und zum anderen auf den Portugal zugehörigen Azoren.⁷ Seit einigen Jahren wird Tee auch in der englischen Grafschaft Cornwall sowie in den schottischen Highlands produziert und kommerziell vermarktet. Dies ist durch den Nordatlantikstrom, welcher ein für diese Breiten ungewöhnlich mildes Klima erzeugt, möglich.⁸⁻⁹ Auf dem mitteleuropäischen Festland finden sich in der Schweiz nahe des Lago Maggiore sowie in der Toskana kleine Teegärten.¹⁰⁻¹¹ Ferner wurden im Jahr 2014 in Freiburg auf vier Feldern Keimlinge von *C. sinensis* gepflanzt. Das Saatgut wurde im Rahmen einer Städtepartnerschaft mit Qingdao aus China geliefert; die erste Ernte wird für 2016 erwartet.¹²⁻¹³

Nach dem Pflücken der Teeblätter folgt deren Verarbeitung, wobei verschiedene Teearten hergestellt werden können. So wird grundsätzlich zwischen unfermentierten (grünen), teilfermentierten (oolong) und fermentierten (schwarzen) Tees differenziert (auf die Unterschiede und Herstellungsverfahren dieser Teearten wird in Abschnitt 1.2 eingegangen).¹⁴

1.1.2 Historie

Die Entdeckung des Tees reicht bis weit in die chinesische Geschichte zurück. In einer der bildreichen Legenden, die von der Entdeckung des Tees berichten, wird das Jahr 2737 v. Chr. genannt.⁵ Zudem wird eine Verwendung zur Zeit der Zhou-Dynastie (1066–221 v. Chr.) angenommen.^{2, 15} Derartige Angaben sind jedoch nicht ausreichend belegt. Um das Jahr 350 n. Chr. erfolgte eine erste dokumentierte Erwähnung in einem chinesischen Wörterbuch.¹⁶ Einen wichtigen Beitrag zur Verbreitung des Teekonsums und zur Entstehung einer ausgeprägten Teekultur in China leistete eine fachliche Abhandlung aus dem Jahre 780 n. Chr., in welcher der Teemeister LuYu umfassend über die damaligen Anbautechniken, Verarbeitungs- sowie Zubereitungsmethoden des Tees berichtet.¹⁵ Im alten China entwickelte das koffeinhaltige Getränk eine außerordentlich große kulturelle Bedeutung, so dass sich auch die chinesischen Kaiser ausgiebig mit der Kunst der Teezubereitung befassten. Als Zeichen der Wertschätzung wurde z. B. LuYu posthum per kaiserlichem Erlass der Titel „Tee-gott“ zuteil.¹⁵ Ausgehend von China verbreitete sich der Teekonsum in die ganze Welt, zunächst in benachbarte Länder, insbesondere nach Japan, per Karawane über die Seidenstraße nach Zentralasien und später über die Teestraße bis nach Russland.² In Mitteleuropa wurde Tee erst im frühen 17. Jahrhundert im Zuge der Ausweitung der Handelswege nach China und Japan bekannt. Zu dieser Zeit erfolgte der Transport des Tees auf dem Seeweg nach Europa und oblag den Niederländern sowie später auch den Briten.¹⁷ Wohl auf Betreiben der Niederländischen Ostindien-Kompanie veröffentlichte der Arzt CORNELIUS DEKKER

Einleitung und Grundlagen

1667 ein Traktat, das die positiven gesundheitlichen Aspekte des Tees (gleichwohl unbelegt und stark übertrieben) herausstellte und so den Teeabsatz in Europa erhöhen sollte.¹⁸ Cornelius Dekker wurde außerdem als Leibarzt an den Hof des Kurfürsten von Brandenburg berufen und führte auch dort das Teetrinken ein.¹⁸ Der Teekonsum begann sich zu dieser Zeit in den Regionen nahe den Importhäfen in England, den Niederlanden und Ostfriesland sowie in den Großstädten zu etablieren, war allerdings zunächst noch den wohlhabenderen Bevölkerungsschichten vorbehalten. Tatsächlich dürfte der proklamierte medizinische Nutzen neben der anregenden Wirkung des Coffeins maßgeblich zur Akzeptanz des ungewohnten und bitteren Heißgetränks beigetragen haben.¹⁷ Ein positiver Effekt auf die Gesundheit der Teekonsumenten ergab sich allerdings weniger aus den physiologisch wirksamen Inhaltsstoffen des Tees als vielmehr aus dem Umstand, dass der Tee Genussmittel in Konkurrenz zum Konsum alkoholischer Getränke stand; folglich wurde dem weit verbreiteten Alkoholismus entgegenwirkt.^{2, 19} Darüber hinaus handelt es sich bei Tee um ein vergleichsweise sicheres Lebensmittel, da dieser mit kochendem und somit sterilem Wasser hergestellt wird.²⁰

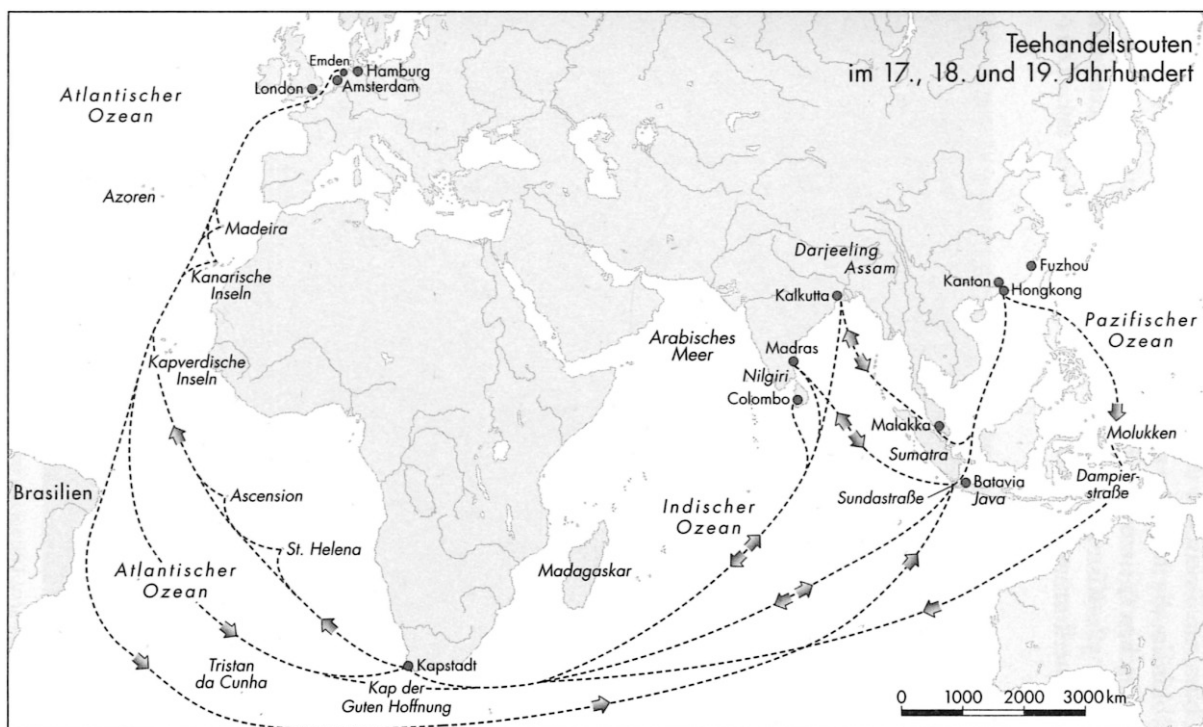


Abb. 1–3 Seerouten für den Teehandel im 17.–19. Jahrhundert (entnommen aus ROHRSEN, 2013).¹⁹

Der Tee erhielt auch eine politische Dimension. So konkurrierten europäische Staaten einerseits um die Kontrolle der Handelsrouten (**Abb. 1–3**), andererseits wurden von kolonialen Staaten, u. a. von Preußen, Konsumverbote erlassen. Konnten diese nicht durchgesetzt werden, folgten Steuern für die damals neuen Genussmittel (neben Tee auch Kaffee, Kakao und Tabak), welche teilweise bis heute bestehen.¹⁷ Ferner kam dem Tee eine prominente Rolle in

den Unabhängigkeitsbestrebungen der britischen Kolonien auf dem Gebiet der heutigen USA zu. Aus Protest gegen die Erhebung von Importzöllen warfen als Indianer verkleidete Kaufleute und Bürger im Jahr 1773 ca. 350 Kisten Tee noch vor ihrer Entladung am Bostoner Hafen über Bord ins Meer (**Abb. 1–4**). Dieses Ereignis ging als *Boston Tea Party* in die amerikanische Geschichte ein.²⁰

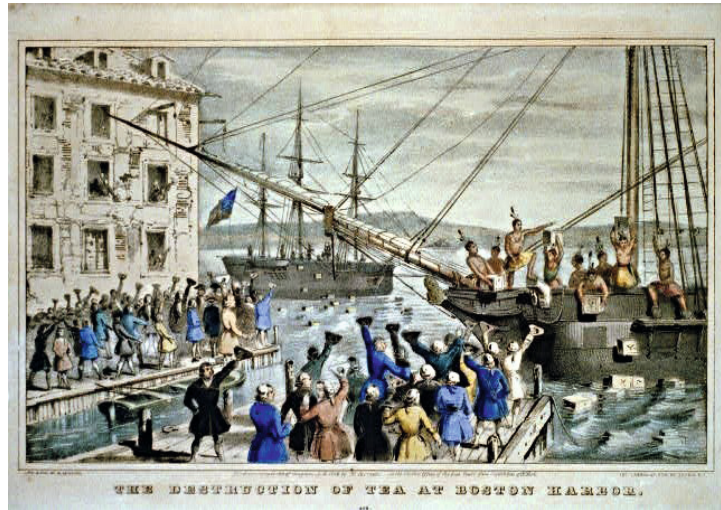


Abb. 1–4 Links: Mit Tee beladene Männer auf dem Weg von Sichuan, China entlang einer Teeroute nach Tibet (Fotografie: Ernest Henry Wilson, 1908). Rechts: Handgefärbte Lithografie der Boston Tea Party von 1773 (Nathaniel Currier: *The Destruction of Tea at Boston Harbor*, 1846).

Im 19. Jahrhundert strebte England eine geringere Abhängigkeit von China an, das bis dahin fast als alleiniger Exporteur gewirkt hatte. Dabei machten es sich die Briten zunutze, dass ihr Major Robert Bruce 1823 im nordindischen Assam eine endemische Varietät der Teepflanze (*Camellia sinensis* var. *assamica*) entdeckt hatte. Nach einer Experimentierphase wurde in der britischen Kolonie erfolgreich Tee angebaut.²¹ Die indischen Tee-Exporte stiegen in der Folge rasant an (von 65 Mio. englischen Pfund im Jahr 1895 auf 160 Mio. Pfund im Jahr 1899). Hierbei handelte es sich vornehmlich um den in England beliebten Schwarztee.¹⁸

1.1.3 Teekulturen

Der Genuss von Tee ist über die Jahrhunderte in vielen Ländern zu einem Bestandteil des Alltags geworden, wobei sich viele unterschiedliche Teekulturen entwickelt haben. So wird in Japan traditionell grüner Tee getrunken. Dies geschieht sowohl alltäglich als auch im Rahmen von Teezeremonien zu besonderen Anlässen. Gegenüber chinesischen Teezeremonien sind die Abläufe noch einmal stark verfeinert worden und werden von ausgebildeten Teemeistern festgelegt. Die japanische Teekultur ist eng mit dem Zen-Buddhismus verbunden.^{19, 22} In der taiwanesischen Teekultur ist der halbfermentierte Oolong-Tee von großer Bedeutung.



Einleitung und Grundlagen

Dagegen wird in Indien fast ausschließlich Schwarztee getrunken, welcher in manchen Regionen in Milch statt Wasser aufgeköcht wird. In großen Teilen des arabischen Raumes wird schwarzer, meist stark gezuckerter Tee konsumiert und auch zu offiziellen Anlässen gereicht.² Während sich in Marokko und Tunesien grüner Tee kombiniert mit Minze großer Beliebtheit erfreut, wird der Tee im Jemen begleitend zum Kathkonsum getrunken und soll einer besseren Extraktion der Droge dienen. Ebenfalls große Teenationen sind Russland, die Türkei und der Iran, in denen sich der Gebrauch eines Samowars zur Herstellung starker Schwarzteeaufgüsse etabliert hat.² In Mitteleuropa ist insbesondere in England eine Tradition des Genusses von kräftigen Schwarztees zu unterschiedlichen Tageszeiten und unter Zusatz von Zucker und Milch entstanden („Afternoon tea“, „High tea“), die auch auf die Trinkgewohnheiten anderer westlicher Länder Einfluss genommen hat.¹⁹ Erwähnenswert ist die norddeutsche Region Ostfriesland, die als eigenständiger Staat betrachtet mit einem Pro-Kopf-Verbrauch von ca. 300 L im Jahr die Liste der teetrinkenden Nationen anführen würde.²³ Kräftige Schwarztees (die sog. *Ostfriesische Mischung* – ein Blend auf der Basis von Assam- und zumeist Java-, Sumatra- oder Ceylon-Tees) mit Sahne und Kluntjes (grobem Kandiszucker) werden hier zu jeder Tageszeit genossen.^{19, 24} Der Bedarf an geeignetem Geschirrtrog auch zur europäischen Entwicklung des Porzellans vor etwa 300 Jahren in Meißen bei. So wird das in Ostfriesland traditionell zugehörige Teeservice mit dem Dekor *Ostfriesische Rose* bereits seit ca. 250 Jahren verwendet.^{22, 24}

1.1.4 Wirtschaftsfaktor

Tee ist das weltweit meistkonsumierte Getränk nach Wasser.²⁵ Dementsprechend hoch ist der Bedarf an Tee auf dem Weltmarkt und damit auch die wirtschaftliche Bedeutung des Teeanbaus in den Herkunftsländern. Die globale Teeproduktion erreichte 2014 eine Rekordmenge von 5,0 Mio. t, was einer Steigerung um fast 60% innerhalb von 10 Jahren entspricht. Dabei ist der Eigenverbrauch der Erzeugerländer überproportional stark angestiegen und machte 2014 mit 3,1 Mio. t fast zwei Drittel der gesamten Teeproduktion aus, während die Exportmengen nur um ca. 20% zugenommen haben.²⁶⁻²⁷ Die Hauptanbauländer sind China, Indien, Kenia, Sri Lanka („Ceylon“) und Indonesien (in dieser Reihenfolge).²³ Trotz der deutlich geringeren Produktionsmengen tritt Kenia als Hauptexporteur an den Handelsmärkten auf, da im Gegensatz zu China und Indien weniger als 10% im eigenen Land verbraucht werden.

In Deutschland ist der Konsum in den vergangenen Jahren auf über 19 000 t angestiegen, es existiert jedoch weiterhin ein deutliches Nord-Süd-Gefälle.²⁸