

茶叶译丛

(茶叶生化)



茶 叶 译 丛

(茶 叶 生 化)

浙江农业大学 編
浙江农业科学院

上海市科学技术編譯館

茶 叶 译 丛

(茶 叶 生 化)

浙江农业大学、浙江农业科学院編

*

上海市科学技术編譯館出版

(上海南昌路69号)

新华书店上海发行所发行 各地新华书店經售

商务印书館上海厂印刷

*

开本 787×1092 1/16 印張 5 5/8 字数 164,000

1963年12月第1版 1963年12月第1次印刷

印数 1-1,000

編 号 : 7011·156

定 价 : 0.70 元

前 言

本輯茶葉譯叢(茶葉生物化學)選擇了近年來有參考價值的國外資料 23 篇。其中重點介紹多酚類(兒茶素)——現代茶葉生物化學研究的中心問題。這些文獻的作者,包括英國的洛勃茨(E. A. H. Roberts)和蘇聯的查普羅苗多夫(M. H. Запрометов),杰姆哈捷(К. М. Джемухадэ)等,是著名的多酚類專家。我們希望通過這些文獻,在一定程度上能反映這一研究領域的動向。

現代生物化學的重大發展常有賴於新方法和新技術的應用。茶葉生物化學的發展也不例外;它從邊緣學科中吸收新的分析方法和研究技術從而提高了研究水平。這一輯選譯了涉及同位素技術、檢壓技術、色層法、分光光度法以及其他分析方法應用於茶葉生物化學研究的若干文獻。從這些文獻里可以看出,正是由於同位素技術的應用,使兒茶素和咖啡鹼在茶樹體內的生物合成問題獲得了嶄新的材料;正是由於色層法的應用,使茶葉多酚類及其氧化產物的複雜成分之謎得以揭曉;正是由於檢壓技術與其他酶化學技術的配合應用,使紅茶發酵的化學機制問題有了新的發展;正是由於分光光度法和其他速測方法的應用,為研究制茶工藝過程中品質形成問題提供了簡便實用的方法,並且給人們展示了茶葉品質化學鑑評的可能性。——從這裡提示我們,“工欲善其事,必先利其器”,在攀登科學高峰,趕上世界先進水平,進一步為祖國茶葉生產服務的途程中,掌握先進的方法和工具是一個值得十分重視的問題。

關於本輯中化學術語和名詞的翻譯,一般都採用中國科學院編譯出版委員會名詞室編訂的英(俄)漢化學化工詞匯;茶葉方面的專門術語則盡量採用我國茶葉界所熟悉的習慣術語。但是,由於茶葉生物化學是新發展的一門學科,有許多化合物是新近發現的,尚無統一的命名。遇到這種情況,我們對外文不統一的,仍按原著者的用法,不強求統一,例如兒茶素的旋光異構體有用 $D, L; d, l; (+)(-)$ 等符號,均按原文符號不加更改。有些名詞在我國有幾種譯法,我們選用較為合理的名詞。為了便於讀者識別起見,這些不統一的譯名或譯者自創的譯名在其第一次出現於本輯時均附注原文。

我們對編譯工作還缺乏經驗,又限於水平,謬誤之處在所難免,祈讀者多加指正。

浙江農業大學
茶葉生物化學教研組

1963. 11.

目 录

I. 物质代谢的生物化学

1. 茶树鞣质复合体的組成	1
2. 茶树幼苗的儿茶素	14
3. 茶叶中多酚类的代謝	16
4. 論儿茶素生物合成的机制	18
5. 儿茶素在茶树幼梢中的生物合成	26
6. 論茶树原产地問題	29
7. 关于茶树幼梢中咖啡碱的形成	31
8. 茶树鮮叶中含氮量的变异	34

II. 制茶工艺生物化学

9. 紅茶发酵化学	38
10. 茶叶发酵时儿茶素的变化	43
11. 茶叶发酵过程中黄烷醇的氧化縮合	46
12. 茶叶发酵过程中的氧化还原势	47
13. 茶叶在热处理与酶作用下的儿茶素轉化	49
14. 制茶过程中黄酮类物质的轉化	51
15. 紅茶酚类氧化产物的本质	53
16. 錫兰茶叶中的銅	59

III. 茶叶化学研究法

17. 儿茶素的定量紙上色层分析	62
18. 用比色法研究紅茶制造的发酵过程	66
19. 紅茶茶湯中茶黄素和茶紅素的分光光度測定和茶叶品质的鉴定	68
20. 茶树鮮叶中黄酮类化合物的研究	
(6) 关于楊梅皮甙	71
21. 綠茶香气的研究	
(4) 二甲硫及其先质	76
22. 用紙上层析法研究格魯吉亚和印度变种茶叶中的游离氨基酸	78
23. 論茶叶中氮含量的測定	80

I. 物质代謝的生物化学

1. 茶树鞣质复合体的組成

Запромёттов, М. Н.

«Биох. чайн. произ.» 7: 114~132, 1959 (俄文)

在茶树的叶子和其他器官里含有各种不同的酚类物质, 这些化合物的基本部分可能是属于鞣质的物质。但实际上, 在鞣质、色素以及在植物体内广泛分布的多酚类如咖啡酸和鞣原酸之間很难划清界限。所有这些化合物在自然界中經常是共同存在的, 显然, 它們彼此之間以同一生物合成途徑^[1,2]相联系。因此在論述茶叶的鞣质时, 必然要涉及和它們相关的化合物。

在研究关于紅茶所产生的香气和滋味的本性問題时, 对于茶树含有的鞣质引起了注意。由于 A. 奧巴林^[3]、A. 庫尔薩諾夫及其同事們^[4,5,6,7,8]的研究, 以及許多外国研究工作者^[9,10]的研究, 确定了在发酵时保証紅茶质量的正是鞣质本身的氧化轉化产物, 并进一步发现茶叶和茶鞣质对于动物和人的器官具有重要的生理作用。它們可以加强血管壁, 调节其渗透性, 这就是拟維生素 P 类^[11,12,13]。

为了了解制茶时的工艺过程和确定这些化合物的生物学活性, 深入研究鞣质的成分是必要的先决条件。

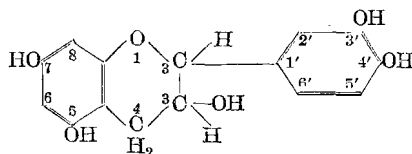
早在十九世紀中叶, 就已从事过茶树鞣质的化学研究。

例如, 在 1847 年 Ф. 罗赫連达尔^[14]从綠茶中分离出沒食子酸, 1867 年 X. 赫拉茨維采^[15]从紅茶中除了分离得到沒食子酸、黄酮醇和槲皮素以外, 作者还推测后者在茶叶中是以呈槲皮素的鼠李糖甙状态存在的。

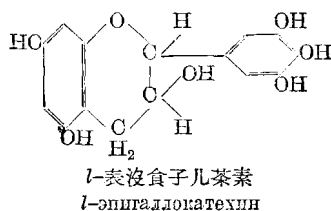
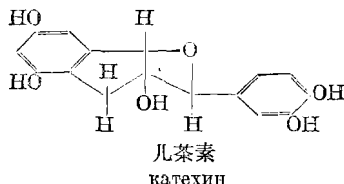
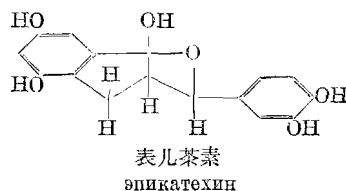
后来的研究家主要研究各种不同組成的鞣质。在这方面大部分研究对象是可溶解在乙酸乙酯中的化合物, 即所謂茶鞣质。分离茶鞣质时, 有时能看到結晶产品^[16]的形成, 但这些物质未被鉴定出来, 同时在进一步研究时也沒有再度被分离出来。

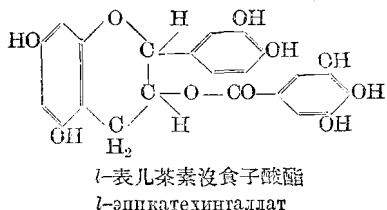
到 1929 年, 辻村^[17]才从日本綠茶中提炼出

0.14% 的多酚类性质的結晶体, 这些物质是 1924 年 К. 弗列捷賓尔格^[18]所研究出的一种儿茶素, 也就是 *l*-表儿茶素 (*l*-эпикатехин) :



儿茶素在其分子中包含两个不对称的碳原子 (第二和第三)。按此, 簡單儿茶素可以有六种立体异构体的形式存在, 即 *l*-儿茶素、*d*-儿茶素、*d, l*-儿茶素、*l*-表儿茶素、*d*-表儿茶素和 *d, l*-表儿茶素。已經确定^[19]儿茶素的构型是反的, 而表儿茶素是順的。后来辻村^[20,21]提炼出結晶状的 *l*-表沒食子儿茶素 (有 0.25% 的收率) 和 *l*-表儿茶素沒食子酸甙 (有 0.325% 的收率) :

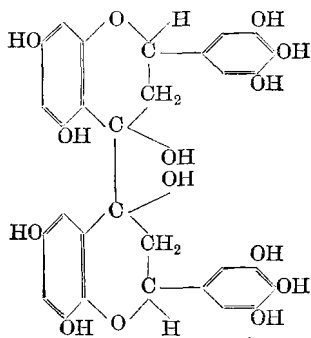




此后在其他茶树变种中也发现有儿茶素。大島义康^[22]于1936年从台湾变种中分离出 l-表儿茶素和 l-表没食子儿茶素；1938年 J. 兰姆^[23]从錫兰茶叶中分离出表没食子儿茶素；1939年 E. 杰斯^[24]从爪哇茶叶中分离出 l-表儿茶素、l-表没食子儿茶素以及 l-表儿茶素没食子酸酯。关于 M. 尼尔施杰依^[25]从阿薩姆茶中分离出儿茶素三没食子酸酯的报导至今还没有得到证实。

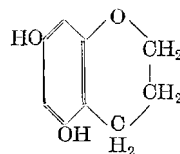
得出的结晶产物是很少的，总计不超过供试茶叶鞣质总含量的2~3%。大部分鞣质是非晶形物质，在某些情况下，发酵或酸解时可以从这些物质中获得少量的没食子酸。

某些研究者涉及复杂的儿茶素类化合物合成的途径，他们企图获得和非晶形物质具有同样特性的物质。例如大島义康^[22]在用红毛杉和含羞草^[26]的鞣质的类似研究工作中合成了双-(5-7-3'-4'-5'-五氧)黄芩那醇 [бис-(5-7-3'-4'-5'-пентаокси) флавинокол]:



这种化合物的元素组成和定性反应与非晶形鞣质的相应材料相一致，此外它们的吸收光谱也几乎是相等的。在这个基础上大島义康^[22]试图确定它们的合成以得到茶鞣质。考虑到儿茶素可能有的同分异构体的多样性和结构上的相似性，这种研究途径不能认为是十分可靠的。看来，儿茶素的吸收光谱一般地不能作为这组化合物内部的典型指标而被接受。全部儿茶素都在紫外线的范围内吸收，在270~280毫微米时有最大的吸收^[27]，并且这个

最大吸收值可以用它们的色满核分子组成的存在来解释：

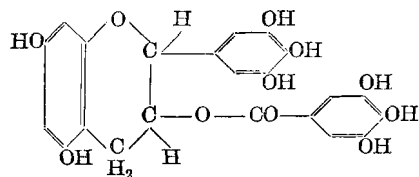


正因为如此，所以黄酮醇的吸收光谱与儿茶素的吸收光谱是很近似的^[17]。

在结束用普通化学研究方法所获得的测定结果时应该提到关于从绿茶中分离出少量的飞燕草素(камферол)^[28]、对香豆酸^[29]和鞣酸^[30]。

以后的几乎全部成就就是采用了 M. 茨维特^[31,32,33]所制订的色层分离法研究茶鞣质而获得的。特别是分配色层分离法^[34]具有更大的希望。

在1947~1948年间 A. 伯特菲尔特及其同事们^[27,35]利用硅胶柱分配色层分离法从錫兰绿茶的鞣质中分离出 l-表没食子儿茶素、d, l-没食子儿茶素、l-表儿茶素、l-表儿茶素没食子酸酯和 l-表没食子儿茶素没食子酸酯。结晶成分的总产量占原始非晶形制剂(能溶于乙酸乙酯)总重量的70%。首次离析的是茶鞣质主要成分(占36%)表没食子儿茶素没食子酸酯：



这些论文可以用来解释錫兰茶叶鞣质部分的成分，这些鞣质部分可溶解在乙醚水溶液中，一般约占溶解在乙酸乙酯的制剂中的75%。

那时，几乎完全缺乏关于格鲁吉亚变种茶树鞣质化学成分的资料。1948年 A. 库尔萨诺夫和 K. 杰姆哈捷^[36]从1.2克红茶鞣质中得到18毫克游离的没食子酸。他们又发现无论在绿茶或红茶里都含有大量酯型结合的没食子酸。这种没食子酸在鞣酸酯酶水解时可以被分离出来。

不久，在 A. 库尔萨诺夫的实验室里，作者从茶树三叶嫩梢中分离出占原料0.03%的结晶形 l-表儿茶素^[11]。其他两种当时已经知道的儿茶素(l-表没食子儿茶素和 l-表儿茶素没食子酸酯)没有能用类似的方法从格鲁吉亚茶树中分离出来。

此外，M. 布库恰瓦^[8]用茶鞣质制剂进行真空高温分解时分离出焦性没食子酸。

我們試圖利用氧化鋁或蔗糖的吸附柱來分離茶鞣質，但沒有得到預期的結果。氧化鋁能不可逆地吸附茶鞣質，而在蔗糖中却不能分離出來。氧化鎂作為具有一般吸附能力的吸附劑，也是沒有效果的。

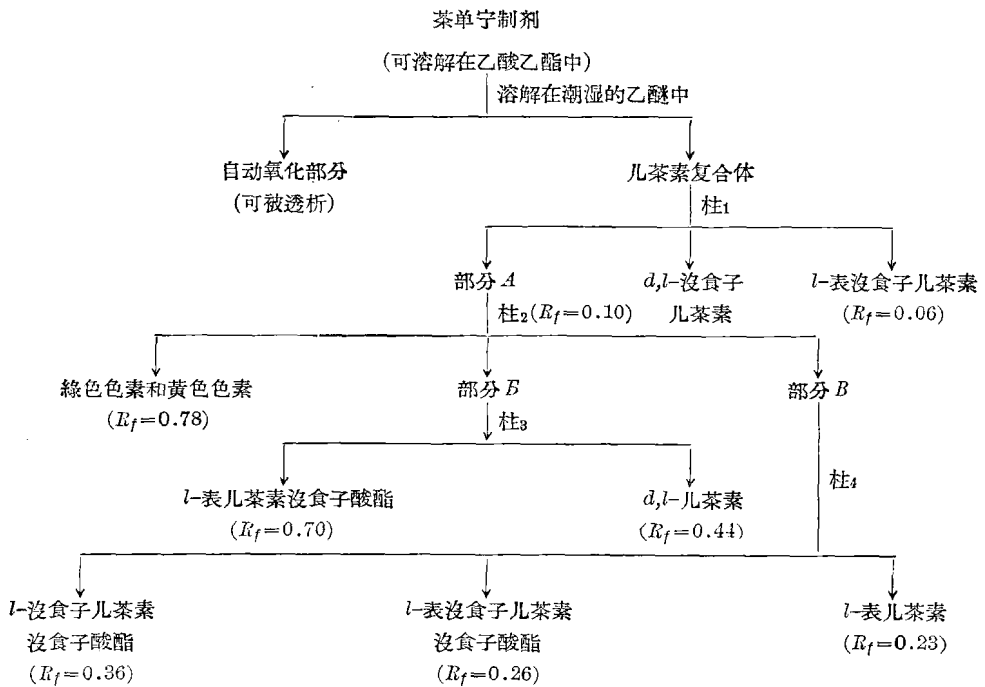
只有採用分配的色層分離法才取得了成效。這種色層分離所進行的物質分離，至少在理論上是由於它們分配系數*上的區別而發生的。通常水相是用親水的吸着物（矽膠、纖維素、澱粉）來固定的，在分離的混合物吸收以後，移動的溶劑通過它。這樣，色層分離柱在理想的情況下，彷彿是許多分液漏斗連在一起。物質分配的系數越小，即物質在水中的溶解度比在非水相中的溶解度越小，那麼物質沿着柱的移動以及轉移到淋洗液中去也越快。

利用磨細的矽膠 ACK-2（密度 2.24）作為載體和用乙醚作為移動的溶劑，我們從格魯吉亞茶樹葉子中分離出鞣質複合體^[37,38]。

為此，用苯和三氯甲烷的混合物（按容積 1:1 混合）以及乙酸乙酯連續提取磨細的干茶葉的方法來分離茶鞣質。乙酸乙酯浸出物用硫酸鈉或硫酸鎂進行乾燥，在濃縮以後加入三至五倍容量的乾燥三氯甲烷。

被分離出的鞣質棉絮狀沉淀物用三氯甲烷沖洗，並在真空乾燥器中乾燥。取 2 克這樣的制劑，放在含有少量濕的乙醚（總體積 40~50 毫升）的研鉢中反復地研磨，接着使醚溶液通過潮濕矽膠柱。不溶于醚的鞣質部分就是留在研鉢中呈濃密的棕色樹脂狀，即所謂的自動氧化部分^[39]。這部分鞣質以後沒有加以研究。

在供試溶液吸收以後通過色譜柱放入濕的乙醚。在洗脫液中兒茶素的出現可以用香草精反應^[40]或用酒石酸鐵反應^[41]來檢驗。茶鞣質複合體的完全分離須順序通過四個矽膠柱才可以達到（見圖解）。



圖解：茶單寧在矽膠柱中的分離

鑒於通過矽膠柱的物質總量實際上與原始混合物的重量相吻合，這種分離可以用來測定茶鞣質各個成分的重量，這種分析方法的缺點在於它是頗為艱難的，但是重量法是十分可靠的，並且足以能夠分離出微量的供試化合物。我們研究了從格魯吉亞茶樹的四種變種的葉子和嫩梢樣本中分離出的鞣質成分。結果列如表 1。為了比較，茲引 A. 伯萊

特菲爾特及其同事們^[46]關於錫蘭綠茶兒茶素成分的資料；這些資料至今還是國外文獻中用最可靠的方法——柱狀色層分離所獲得的唯一的資料。

* 分配系數 $K = \frac{C_{H_2O}}{C_0}$ 是在均衡條件下物質在水相中的濃度和物質在有机溶劑中濃度的比例。二個相的容積應該是一樣的。

表1 格魯吉亞茶樹嫩梢和葉子中的單寧成分
(溶解在乙醚中的部分)

物 質	含 量 (占 %)				
	三 葉 芽 葉 (阿那謝烏里 1950年)	二 葉 芽 葉 (阿那謝烏里 1951年)	五 至 六 葉 (阿那謝烏里 1951年)	五 至 六 葉 (恰克瓦國營 農場 1953年)	錫蘭綠茶 (伯 萊特菲爾特和 潘尼 1948年)
l-表兒茶素	1.33	1.98	1.76	1.18	4.4
d, l-兒茶素	0.4	0.65	0.43	0.16	1.7
l-表沒食子兒茶素	12.0	12.67	19.04	30.46	16.0
d, l-沒食子兒茶素	2.0	2.16	2.98	9.64	7.9
l-表兒茶素沒食子酸酯	18.1	15.30	13.47	8.82	10.3
l-表沒食子兒茶素沒食子酸酯	58.1	60.96	53.93	43.15	49.1
l-沒食子兒茶素沒食子酸酯	1.4	2.06	3.89*		6.5
黃色的黃酮類色素	0.27	0.33	微 量	—	—
其他色素	5.00	2.42	2.78	4.79	—
總 計	98.6	98.53	98.23	98.20	95.9

* 在一芽五、六葉葉片中,除了 l-沒食子兒茶素沒食子酸酯以外,還含有一種不知名的、性質接近于兒茶素的東西

從表1中可見,在茶樹葉子變粗老時,它們的鞣質成分中帶有鄰位羥基的簡單兒茶素含量(l-表兒茶素、d, l-兒茶素)減少,而帶有連位的或焦性沒食子酸的羥基的簡單兒茶素(l-表沒食子兒茶素、d, l-沒食子兒茶素)含量增加。當葉子變老時,鄰位兒茶素的總含量(l-表兒茶素 + d, l-兒茶素 + l-表兒茶素沒食子酸酯)也同樣減少。

可以看到五、六葉中兩種單寧樣品成分有巨大的變異性,看來就連這樣同一種供試樣品在各種兒茶素含量的變幅上亦可以達到一至二倍之多。與格魯吉亞變種比較,錫蘭茶樹單寧中^[27]沒食子酸酯類的含量較少時,l-表兒茶素和 d, l-兒茶素的含量顯著較多。

正如專門提供的試驗^[42]所證明:鄰位兒茶素相對數量的提高增加了茶單寧酶性氧化的能力。例如,等分子量的鞣質與 l-表兒茶素的混合物在多酚氧化酶氧化時和純單寧相比,氧的吸收量可增加40%以上,同時釋放出多一倍數量的CO₂。這是由於鄰位型的氧化還原勢顯著高於連位型。因此,例如與焦沒食子酚不同的焦性兒茶素,可以在多酚氧化酶存在的條件下引起某些氨基酸的氧化脫氨基作用,能同苯胺相互作用^[43,44,45]。

可以推測^[46]:

$$\frac{\text{簡單的鄰位兒茶素}}{\text{簡單的沒食子兒茶素}}$$

這種關係決定全部茶鞣質複合體酶性氧化的深度和進程。比例數值越大,茶單寧的氧化就越快而深,

並且可能的次級反應範圍也越廣闊。對於二葉芽葉來說,單寧的比例是:

$$\frac{l\text{-表兒茶素} + d, l\text{-兒茶素}}{l\text{-表沒食子兒茶素} + d, l\text{-沒食子兒茶素}} = 0.18$$

而對於五、六葉的單寧,它的比例等於0.10。

因此,二葉芽葉的單寧數值差不多比五、六葉的單寧高出一倍以上,也就是隨着茶樹葉子年齡的增長,在它們之中的單寧發生着以連位羥基(OH)代替鄰位的羥基:由此產生粗老葉子的單寧的次級氧化能力變弱以及粗老原料發酵困難的現象。

關於茶樹鞣質組成的較詳細的資料是依靠紙上色層分離法獲得的。例如,1950年A.伯萊特菲爾特和E.貝脫斯密斯^[47]用紙上色層分離法作為確定兒茶素的空間結構的方法時,證明對茶單寧來講,最典型的是表型兒茶素。它們曾確定了 l-表沒食子兒茶素、l-表沒食子兒茶素沒食子酸酯和 l-沒食子兒茶素沒食子酸酯的空間結構。

阿薩姆變種的茶樹嫩梢汁液,經用雙向紙上色層分離法^[48]發現含有達22種無色的多酚類(除了 l-表兒茶素和 d, l-兒茶素以外,其餘全部含有焦性沒食子酸核)和12種黃色的黃酮類。可惜,這項工作只具有定性方面的性質。除了已經知道的兒茶素以外,已證實有沒食子酸,並且推測有間雙食子酸存在,用紙上色層分析法從茶樹幼苗的黃酮類中證實有芸香甙和槲皮甙存在^[49]。由於黃酮類的糖甙類型是不能被氧化酶類^[50]所作用的,因此作者推測茶葉的全部黃酮類都是糖甙類物質,因為在發酵時,它

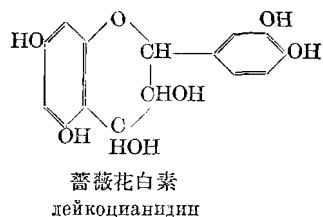
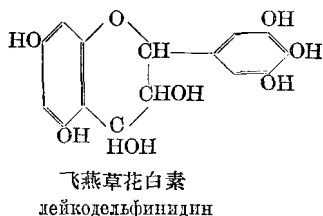
們并不被氧化。后来, E. 洛勃茨、R. 卡脱拉爱脱和 D. 伍特^[51] 用过量的醋酸鉛初步从茶叶的水浸出物中得到儿茶素, 同时用加入氨的方法产生了黄酮醇的沉淀。他們还在濃縮液中发现有下列的甙类: 飞燕草素-3-葡萄糖甙(紫云英甙)、飞燕草素-3-鼠李葡萄糖甙、飞燕草素-3-鼠李双葡萄糖、槲皮素-3-葡萄糖甙(异槲皮素甙)、槲皮素-3-鼠李葡萄糖甙(芸香甙)、槲皮素-3-鼠李双葡萄糖、楊梅皮素-3-葡萄糖甙、楊梅皮素-3-鼠李甙(楊梅皮甙)和楊梅皮素-3-鼠李葡萄糖甙。

除了糖甙类以外, 这种濃縮液中还含有配质: 飞燕草素、槲皮素和楊梅皮素。由此可初步推测^[50], 茶叶中不含有游离的黄酮醇配质, 但这一点没有被后来的研究所证实。在同一論文中作者报导, 采用同样的方法来处理紅茶, 其中只发现有紫云英甙、飞燕草素-3-鼠李葡萄糖甙、飞燕草素-3-鼠李双葡萄糖甙、异槲皮甙、芸香甙、槲皮素-3-鼠李双葡萄糖甙、楊梅皮素-3-葡萄糖甙以及楊梅皮素-3-鼠李葡萄糖甙。由此可以得出結論, 当获得紅茶时, 黄酮醇部分(主要是配质部分)全部被氧化。

由阿薩姆茶树变种的叶片中已經表明有氟原酸^[49] 存在。以后又发现有咖啡酸^[51] 和以前所不知道的鸡納酸的沒食子酸酯——这也就是所謂茶沒食子素(теогаллин)^[51, 52, 53], 它在鮮叶中含有相当大的数量。除此以外, 已經表明^[54] 在茶树鮮叶的水浸出液中存在对香豆酸、順氯原酸和反氯原酸以及有两种尚未鉴定的氯原酸的同分异构体(可能是順和反的异氯原酸)和四个对香豆酸的同分异构体。R. 卡脱拉爱脱和 E. 洛勃茨^[52] 在紅茶中除了找到沒食子酸、咖啡酸、对香豆酸和氯原酸、焦沒食子酚、紫沒食子素羧酸外, 并推测还有紅沒食子酸。既然在鮮叶的浸出液中缺乏后述的多酚类, 因此有根据来假定这些物质是在茶叶发酵时由于深刻的氧化变化的結果而形成的。用双向紙上色层分离法[第一向的溶剂是丁醇-醋酸-水(4:1:2.2); 第二向的溶剂是2%的醋酸]可以成功地分离出儿茶素氧化产物^[55]。已經得到三个斑点, 第一向的溶剂在紙上移动, 第二向的不移动。具有最大 R_f 值的物质的分子量是 596, 这和 A. 庫尔薩諾夫、K. 杰姆哈捷以及 M. 查普罗苗多夫^[7] 以前所得到的材料頗为近似, 并且証明了关于儿茶素氧化产品的二聚合特性, 进一步进行这些研究就可以解釋茶叶发酵过程的化学上的細节。

除了儿茶素和羧基羧酸的芳香酸以外, E. 洛勃

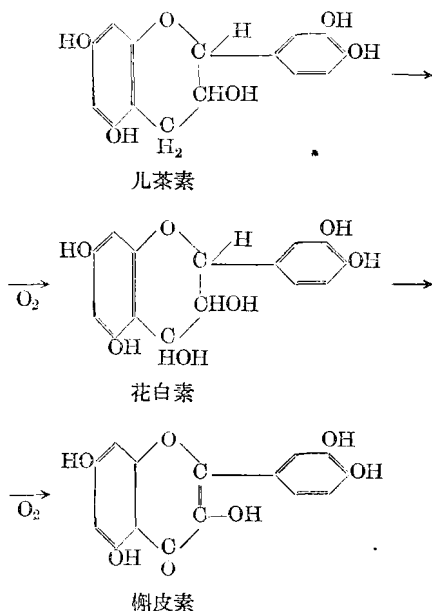
茨、R. 卡脱拉爱脱以及 D. 伍特^[56] 在阿薩姆变种的茶叶中发现有許多种花白素(лейкоантоцианидин), 其中包括飞燕草花白素和薔薇花白素。



在茶叶中含有的花白素类(或它們的甙类——花白素 лейкоантоцианы, 同样被称为花白素甙 лейкоантоцианины), 其数量比儿茶素少得多。

为了发现花白素, 首先用乙酸乙酯来去除儿茶素的主要部分, 而剩余的在硅胶柱上进行分离。花白素在双向紙上色层分离以后鉴定了其相应的部分。

花白素可以认为是介乎儿茶素和黄酮醇之間的連接环节:



近年来在研究茶叶的多酚类方面获得很大成就, 特别是日本研究者所获得的黄酮醇。例如, 大島义康和中林敏郎^[57] 研究出用磷鉍酸測定沒食子酸

和黄酮醇总量的比色法。儿茶素应该预先从供试溶液中除去。在720和430微毫米时测定其吸收度，同时将所获得的系数用来计算儿茶素和黄酮醇的含量：

$$C_{\text{没食子酸}} = \frac{1.2E_{720} - 7.3E_{430}}{0.886}$$

$$C_{\text{黄酮醇}} = \frac{1.0E_{430} - 4.3E_{720}}{0.880}$$

这里 E_{720} 和 E_{430} 相应的是720微毫米和430微毫米时的浸出液。

作者用这种方法测定了不同的阿萨姆变种和日本变种的茶叶中没食子酸和黄酮醇的含量。在所研究的不同茶样中没食子酸的数量大约占茶叶干重的0.5~1.4%，而黄酮醇的数量占3.8~9.8%。中林敏郎^[58]从茶叶中分离出芸香甙，并认为在他所研究的样品中黄酮醇的含量为每克干物质的6.8~8.75毫克，而芸香甙的数量是0.88~2.90毫克。已经证明茶树的遮荫可以引起叶片中儿茶素以及黄酮醇含量的降低。

以后，大岛义康和中林敏郎^[59]用1000张滤纸组为柱，以色层分离法从茶叶中分离出六种黄酮醇：芸香甙、飞燕草素-3-鼠李葡萄糖甙、飞燕草素-3-鼠李双葡萄糖甙、槲皮素-3-鼠李双葡萄糖甙、飞燕草素-三葡萄糖甙和槲皮素-三葡萄糖甙。这些作者^[60]还在硅酸锌和硅酸镁（试剂镁）的柱上把茶叶的黄酮醇混合物分为飞燕草素、槲皮素、槲皮甙、紫云英甙（飞燕草素-3-葡萄糖甙）、异槲皮甙、飞燕草素-3-鼠李葡萄糖甙和芸香甙。

在用双向纸上色层分离时，溶剂是正丁醇-醋酸-水(4:1:2)和含有20%水分的苯酚。他们^[61]发现阿萨姆变种的茶叶中有23个不同的黄酮醇斑点，其中有9个属于飞燕草素类和它的甙类，有14个属于槲皮素和它的甙类。

表2中列出经色层分离鉴定出的这些化合物的主要代表物。

1954年从茶叶中分离出槲皮素-3-鼠李双葡萄糖甙，它是浅黄色结晶，并很易溶于水中^[62]。

直到目前为止，采用纸上色层分离法来研究格鲁吉亚茶树的鞣质的目的，主要在于解决有关茶鞣质复合体在发酵时转变的问题，在茶树种籽发芽条件下个别儿茶素形成的顺序性问题以及生长条件对于儿茶素成分的影响等问题。

例如，M. 查普罗苗多夫和Г. 索波列夫^[63]证明：在茶叶发酵时实际上发生了儿茶素的完全氧化，首先是含有焦没食子酰基的儿茶素被氧化（*l*-表没

表2 在阿萨姆变种茶叶中所发现的黄酮醇及其甙类的 R_f 值

(根据大岛义康和中林敏郎的资料)

物 质	在正丁醇-醋酸-水(4:2:1)混合物中的 R_f 值	在苯酚含有20% H_2O 中的 R_f 值
飞燕草素	0.93	0.66
槲皮素	0.76	0.41
槲皮甙	0.78	0.57
紫云英甙	0.73	0.59
异槲皮甙	0.57	0.57
飞燕草素-3-葡萄糖鼠李甙	0.53	0.58
芸香甙	0.47	0.80
飞燕草素-3-葡萄糖鼠李甙	0.38	0.37
槲皮素-3-葡萄糖-葡萄糖-鼠李甙	0.35	0.27
未鉴定的飞燕草素甙类	0.30	0.38
未鉴定的槲皮素甙类	0.15	0.06

食子儿茶素、*d*、*l*-没食子儿茶素、*l*-表儿茶素没食子酸酯、*l*-表没食子儿茶素没食子酸酯和 *l*-没食子儿茶素没食子酸酯)。这些结果与其他研究者的材料相吻合，他们证明红茶或者是完全不包含儿茶素^[64,65]，或者含有很少的数量^[48,66]。正如B. 哥吉亚^[67]所指出的，在休眠的茶籽中不含有儿茶素。但是茶籽的发芽伴随着强烈的儿茶素形成过程。首先是形成这种化合物最简单的类型，然后(在60~70天生长期时)在嫩芽中含有成年茶树所特有的一套同样的儿茶素^[68]。

指出没食子酸酯化的儿茶素只能在嫩芽的地上部分中发现是有意义的。这证明在茶树根部显然没有没食子酸酯化。结合纸上色层分离和示踪原子法，成功地证明了^[69]茶树儿茶素合成的主要部位是年轻的、生长旺盛的幼枝(嫩梢)。

K. 杰姆哈捷和Г. 沙尔涅娃利用他们制订的纸上色层分离儿茶素定量测定法^[70]进行了许多关于在不同生长期、不同的植物生长地理条件以及其他条件下茶树叶片中儿茶素含量变化的研究^[71,72]。这种方法已用于在茶叶发酵时儿茶素数量变化的研究^[73,74]方面以及在茶籽发芽及其进一步发育时儿茶素动态的研究^[75]等方面。

在有了儿茶素的纸上色层分离法以后，出现了几种儿茶素定量测定的方法。K. 杰姆哈捷和Г. 沙尔涅娃^[70]的方法(色斑在惰气中进行洗提，然后进行比色)虽然比较复杂，但是具有更大的精确性。V. 福

森斯^[76]测定可可豆中儿茶素含量时,把相应的色层谱部位剪下(供试的浸出液在滤纸上可以显现出一个宽8厘米的色带),并且将它们放在水溶液中用0.01N的KMnO₄溶液进行滴定,各种儿茶素的高锰酸钾滴定值是用平行试验测定的。V. 福森斯所选择的方法有许多缺点,其中值得注意的除了准确性很小以外,还有对于儿茶素没有特异性。在这些条件下,高锰酸钾可以在色层分离后被各个儿茶素的色区中显现的其他物质所氧化。

还有一种测定儿茶素的方法(作者称之为半定

量法)是大岛义康、中林敏郎和C. 西田^[77]所使用的。作者根据色层谱上斑点的面积来测定儿茶素的浓度(溶剂:正丁醇-醋酸-水5:2:6;显谱剂:重氮化对氨基苯磺酸 Диазогированная сульфаниловая кислота),所用的公式如下:

$$\lg A = S \times R_f \times 0.004 + 1.2$$

A——在1000毫升中儿茶素的毫克浓度

S——色斑点的面积(毫米²)

上述的作者就阿萨姆茶树变种、台湾茶树变种和日本茶树变种所测得的资料列于表3。

表3 在不同变种的茶树中儿茶素的含量

茶树的变种	l-表没食子儿茶素	l-没食子儿茶素	l-表儿茶素	没食子酸	l-表没食子儿茶素没食子酸酯和l-没食子儿茶素没食子酸酯	l-表儿茶素没食子酸酯	总 量
阿萨姆土生种	5.4	1.6	1.2	1.2	8.5	3.6	21.5
台湾青心乌龙	4.5	1.2	1.5	1.3	7.1	4.6	20.2
鹿儿岛土生种 N-2	3.7	1.1	1.5	0.7	2.8	1.8	11.6

应该指出,以这些资料与表1用称重的方法所获得的材料比较时,大岛义康及其同事的方法,显然偏大了表儿茶素的含量,而相反地缩小了l-表没食子儿茶素没食子酸酯和l-没食子儿茶素没食子酸酯的含量。由此可见,大岛义康和中林敏郎以及C. 西田^[77]的方法同样是精确性不够;无疑地在这方面是不如K. 杰姆哈捷和Г. 沙尔涅娃^[70]的方法的。

最近M. 查普罗苗多夫^[78]为了进行儿茶素的定量测定^[70],利用了最简单的下行色层分离法以蓝绿色的滤光片(最大吸收值为4900Å)来代替蓝色滤光片(最大吸收值为4580Å)可以大大地提高方法的精确度。在上述论著中,作者引列了在标准仪器上(卜氏阶式光度计)测定的各种儿茶素含量的数值计算表。在没有惰气的条件下工作时,由于在滤纸上的不可逆性吸附作用,应在结果中加入10%的儿茶素损失的修正数值。

综合迄今已经积累的資料,可以得出結論說茶单宁不是固定組成成分的复合体。其中各种成分的比例关系决定于茶树的类型、叶片的年龄和生长的时间等等。此外获得单宁制剂的方法同样很重要地影响到它的組成。例如,倘使鲜叶或經仔細固定的叶片的水浸出物实际上含有全部的多酚类总量(当然,沒有計算和蛋白质有联系的不溶性的多酚类物质在內),那么从用乙酸乙酯多次提取的这种浸出液中所得到的制剂中具有高分配系数的物质将显著

减少,也就是溶解于水比溶于乙酸乙酯更易的物质将会显著减少。在这些物质中,包括有几乎全部的黄酮醇甙类、l-表儿茶素没食子酸、d,l-没食子儿茶素、茶没食子素、氯原酸等等。当用乙酸乙酯处理干茶时,多酚类的浸出液将比較完全,但在这种情况下制剂毕竟还是不能完全反映存在于茶的水浸液中由高锰酸钾所氧化的多酚类物质的多样性。

不久以前,研究者在茶叶化学方面的研究主要是在于鞣质部分的研究,这些物质用乙酸乙酯提出,并且通常被称为茶鞣质。这一組成的主要成分(可溶于液体的乙醚中)含有94~96%的儿茶素及其没食子酸酯。

根据A. 庫尔薩諾夫和他的学派^[4,5,42]所提出的主張正是这种組成部分在发酵时反映出主要的氧化变化,因此也反映出紅茶的品质。

关于乙酸乙酯制剂中不溶于含水乙醚并在儿茶素分离时很快被透析的那一部分是颇为复杂的问题。它的成分至今还没有完全研究出来。对于研究这种自动氧化的組成部分用一般的分析方法是不足的。看来,它的反应基团还在分离以前就应该保护儿茶素的各部分組成(例如乙酰化作用),然后分析成稳定的衍生物。

用乙酸乙酯提取后留在水溶液中的多酚部分仅最近几年才加以研究。在它的成分里发现两种黄酮醇的各种甙类——飞燕草素和槲皮素以及茶没食子

酸素(沒食子酰鸡納酸), 还有其他种的酚羧酸。應該指出, 和其他的儿茶素組成部分相比时, 它的比重不大, 大概在紅茶制造的过程中所起的作用也不大。

最后, 茶叶(尤其是紅茶)含有和蛋白质結合的多酚类。这部分茶鞣质不进入水浸出液中, 并且只在用弱碱液处理时才能被提取。M. 布庫恰瓦和同事們^[79,80]的許多論著中进行了許多关于鞣质的結合部分的研究。这些論著表明: 在用碱提取和用酸

处理以后, 很大部分的結合鞣质变成可溶于乙酸乙酯的物质, 因此不是高分子的化合物。可惜到现在为止, 在結合的組成部分中还未分离出各种单独的物质。这是未来研究的任务。

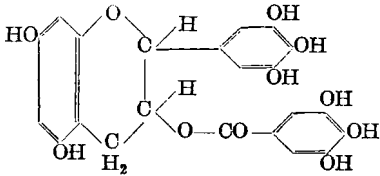
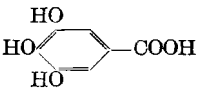
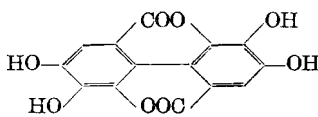
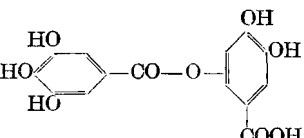
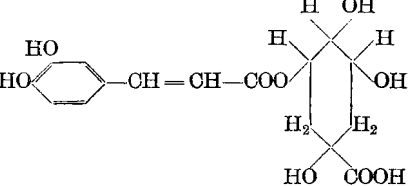
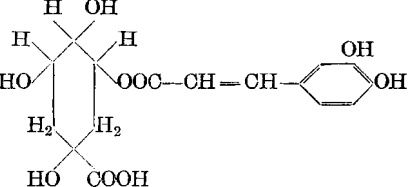
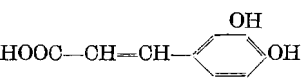
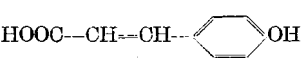
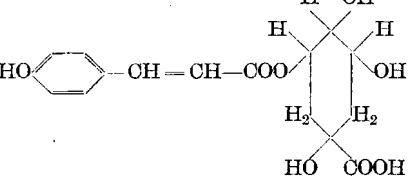
應該指出: C. 杜米西节^[81]用紙上色层分离法成功地鉴定出在和茶鞣质的类型相近似的葡萄藤的結合鞣质成分中有 *d*-儿茶素和 *d,l*-儿茶素。

最后我們列出在茶树叶片中所发现的多酚类物质的綜合表(表 4)。

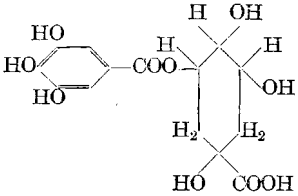
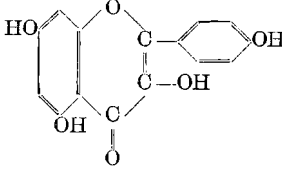
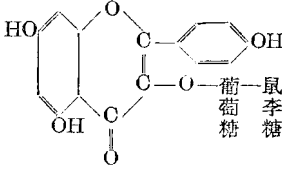
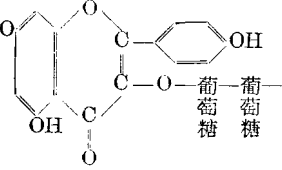
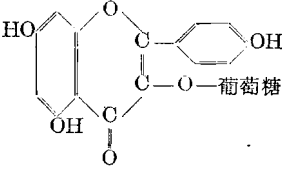
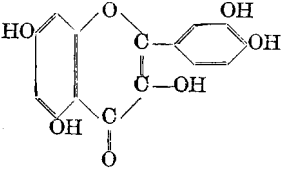
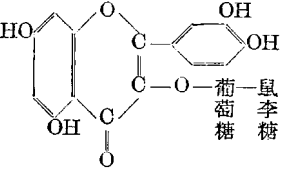
表 4 在茶树叶片中发现的多酚类

多 酚 类	結 构 式	茶树品种	由誰提炼和鉴定
<i>l</i> -表儿茶素 <i>l</i> -эпикатехин		日 本 錫 兰 阿 薩 台 灣 省 格 魯 吉 亞 爪 哇	辻村 (1929); 大島义康 (1936); B. 杰斯; A. 伯萊特菲尔特等 (潘尼、芳埃特, 1947); M. 查普罗苗多夫 (庫尔薩諾夫、布金、波沃洛茨卡、查普罗苗多夫, 1950); M. 查普罗苗多夫 (1952)。
<i>d, l</i> -儿茶素 <i>d, l</i> -катехин		錫 兰 格 魯 吉 亞	A. 伯萊特菲尔特及其同事們 (伯萊特菲尔特、潘尼, 1948); M. 查普罗苗多夫 (1952)。
<i>l</i> -表沒食子儿茶素 <i>l</i> -эпигаллокатехин		日 本 錫 兰 格 魯 吉 亞 台 灣 省 爪 哇	M. 辻村 (1934); 大島义康 (1939); J. 兰姆 (1938); B. 杰斯 (1939); A. 伯萊特菲尔特及其同事們 (潘尼、芳埃特, 1947); M. 查普罗苗多夫 (1952)。
<i>d, l</i> -沒食子儿茶素 <i>d, l</i> -галлокатехин		錫 兰 格 魯 吉 亞 日 本 阿 薩 台 灣 省	A. 伯萊特菲尔特及其同事們 (潘尼, 1948); M. 查普罗苗多夫 (1952); 大島义康及其同事們 (中林和西田, 1952)。
<i>l</i> -表儿茶素沒食子酸酯 <i>l</i> -эпикатехингаллат		日 本 錫 兰 爪 哇 格 魯 吉 亞 台 灣 省 阿 薩 姆	M. 辻村 (1935); B. 杰斯; A. 伯萊特菲尔特及其同事們 (潘尼, 1948); M. 查普罗苗多夫 (1952); 大島义康及其同事們 (中林、西田, 1952)。
<i>l</i> -表沒食子儿茶素沒食子酸酯 <i>l</i> -эпигаллокатехингаллат		錫 兰 格 魯 吉 亞 台 灣 省 阿 薩 姆	A. 伯萊特菲尔特及其同事們 (潘尼, 1948); M. 查普罗苗多夫 (1952); 大島义康 (中林、西田, 1952)。

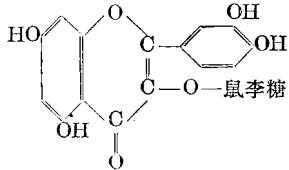
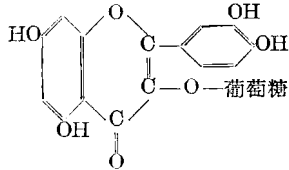
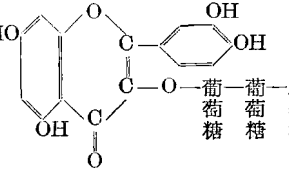
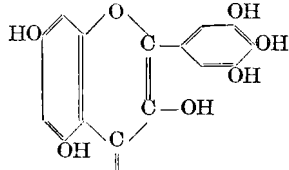
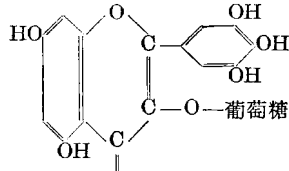
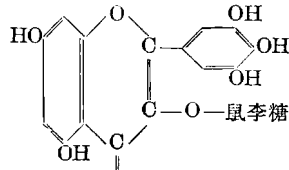
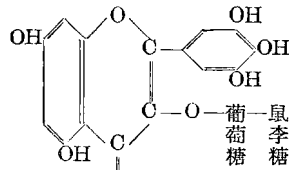
(續表)

多 酚 类	结 构 式	茶 树 品 种	由 誰 提 煉 和 鑒 定
l-沒食子儿茶素沒食子酸酯 l-галлокатехингаллат		錫 兰 格 魯 吉 亞 台 灣 省 阿 薩 姆	A. 伯萊特菲爾特及其同事們(潘尼, 1948); M. 查普羅苗多夫(1952); 大島又康(中林、西田, 1952)。
沒食子酸 Галловая кислота		中 國 格 魯 吉 亞 日 本 台 灣 省 阿 薩 姆	Ф. 羅赫連達爾(1847); X. 赫拉茨維采(1867); A. 庫爾薩諾夫、K. 杰姆哈捷(1948); 大島又康(1936); B. 杰斯(1939)。
鞣花酸 Эллаговая кислота		日 本	辻村(1947)。
間双沒食子酸 m-дигалловая кислота		阿 薩 姆	R. 卡脫拉愛脫和 E. 洛勃茨(1954)。
氯原酸(咖啡-3-鸡納酸) (正、反异构体) Хлорогеновая кислота (кофенл-3-хинная) (цис-и транс-изомеры)		阿 薩 姆	E. 洛伯茨、D. 伍特(1953); R. 卡脫拉愛脫、E. 洛勃茨、A. 弗魯德、A. 威廉士(卡脫拉愛脫、洛伯茨、弗魯德、威廉士, 1955)。
异氯原酸(咖啡-5-鸡納酸) (正、反异构体) Изохлорогеновая кислота (кофенл-5-хинная) (цис-и транс-изомеры)		阿 薩 姆	R. 卡脫拉愛脫、E. 洛勃茨、A. 弗魯德、A. 威廉士(1955)。
咖 啡 酸 Кофейная кислота		阿 薩 姆	R. 卡脫拉愛脫、E. 洛勃茨(1951)。
对香豆酸 p-кумаровая кислота		阿 薩 姆	R. 卡脫拉愛脫、E. 洛勃茨、A. 弗魯德、A. 威廉士(1955)。
对香豆鸡納酸 p-кумарилхинная кислота		阿 薩 姆	R. 卡脫拉愛脫、E. 洛勃茨、A. 弗魯德、A. 威廉士(1955)。

(續表)

多 酚 类	结 构 式	茶树品种	由誰提炼和鉴定
茶没食子素 (没食子酰鸡纳酸) Теогаллин (галлоилхинная кислота)		阿 薩 姆	R. 卡脱拉爱脱、E. 洛勃茨(1955)。
飞燕草素 Камферол		日 本 台 灣 省	大島义康及其同事(1937); 大島义康、中林敏郎(1953)。
飞燕草素-3-鼠李葡萄糖甙 Камферол-3-рамноглюкозид		阿 薩 姆	大島义康、中林敏郎(1953)。
飞燕草素-3-鼠李双葡萄糖甙 Камферол-3-рамнодиглюкозид		阿 薩 姆	大島义康、中林敏郎(1953)。
飞燕草素-3-葡萄糖甙 (紫云英甙) Камферол-3-глюкозид (астрагалин)		阿 薩 姆	大島义康、中林敏郎(1953)。
飞燕草素-三葡萄糖甙 Камферол-триглюкозид	甙的联接位置未定	阿 薩 姆	大島义康、中林敏郎(1953)。
槲皮素 Кверцетин		阿 薩 姆	大島义康、中林敏郎(1953)。
芸香甙 Рутин		阿 薩 姆 日 本	大島义康、中林敏郎(1953), E. 洛勃茨、D. 伍特(1951)。

(續表)

多 酚 类	結 构 式	茶 树 品 种	由 誰 提 煉 和 鑒 定
槲皮甙 Кверцетрин		阿 薩 姆	大島义康、中林敏郎 (1953), E. 洛勃茨、D. 伍特 (1951)。
异槲皮甙 Изокверцетрин		阿 薩 姆	大島义康、中林敏郎 (1953)。
槲皮素-3-鼠李双葡萄糖甙 Кверцетин-3-рамнодиглюкозид		阿 薩 姆 日 本	大島义康、中林敏郎 (1953)。
槲皮素三葡萄糖甙 Кверцетинтриглюкозид	甙的联接位置未定	阿 薩 姆	大島义康、中林敏郎 (1953)。
杨梅皮素 Мирицетин		阿 薩 姆	E. 洛勃茨、R. 卡特拉爱 脱、D. 伍特(1957)。
杨梅皮素-3-葡萄糖甙 Мирицетин-3-глюкозид		阿 薩 姆	E. 洛勃茨、R. 卡特拉爱 脱、D. 伍特(1957)。
杨梅皮素-3-鼠李糖甙 (杨梅皮甙) Мирицетин-3-рамнозид (Мирицитрин)		阿 薩 姆	E. 洛勃茨、R. 卡特拉爱 脱、D. 伍特(1957)。
杨梅皮素-3-鼠李葡萄糖甙 Мирицетин-3-рамноглюкозид		阿 薩 姆	E. 洛勃茨、R. 卡特拉爱 脱、D. 伍特(1957)。

(續表)

多 酚 类	结 构 式	茶树品种	由誰提炼和鉴定
薔薇花白素 Лейкоцианидин		阿 薩 姆	E. 洛勃茨, R. 卡特拉爱脱, D. 伍特, (1956)。
飞燕草花白素 Лейкодельфинидин		阿 薩 姆	E. 洛勃茨, R. 卡特拉爱脱, D. 伍特, (1956)。

参 考 文 献

- [1] Robinson R., Nature, 137, 172, 1936.
- [2] Geissman T., Hinreiner E., Bot. Rev., 2~3, 1952.
- [3] Опарин А., Биохимия чайного производства, 1, 6, 1935.
- [4] Курсанов А., Биохимия, 8, 188, 1943.
- [5] Курсанов А., Биохимия чайного производства, 5, 7, 1946.
- [6] Курсанов А., Синтез и превращение дубильных веществ в чайном растении. Баховские чтения, VII. М., Изд-во АН СССР, 1952.
- [7] Курсанов А., Джемухадзе К. и Запрометов М., Биохимия, 12, 421, 1947.
- [8] Вокучава М., Биохимия чайного производства, 6, 20, 1950.
- [9] Bradfield A., Chem. & Ind., 26, 242, 1946.
- [10] Roberts E., Adv. Enzymol., 2, 113, 1942.
- [11] Курсанов А., Букин В., Половцкая К. и Запрометов М., Биохимия чайного производства, 6, 170, 1950.
- [12] Запрометов М., Сборник Современные вопросы советской витаминологии. М., Медгиз, 1955.
- [13] Курсанов А. и Запрометов М., Физиология растений, 2, 387, 1955.
- [14] Rochleder F., Ann. Chem. u. Pharm., 63, 202, 1847.
- [15] Hlasiwetz H., Ann. Chem., 142, 233, 1867.
- [16] Nanninga A., Mededeelingen uit slands plantentuin (Batavia), 46, 1901.
- [17] Tsujimura M., Sc. pap. Inst. Phys. Chem. Res. (Tokyo), 10, 253, 1929.
- [18] Freudenberg K. & Purmann L., Ann. Chem., 437, 274, 1924.
- [19] King F., Clark-Lewis J. & Forbes W., J. Chem. Soc., 2948, 1955.
- [20] Tsujimura M., Sc. pap. Inst. Phys. Chem. Res. (Tokyo), 24, 149, 1934.
- [21] Tsujimura M., Sc. pap. Inst. Phys. Chem. Res. (Tokyo), 26, 186, 1935.
- [22] Oshima T., Bull. Agric. Chem. Soc. Japan, 12, 104, 1936.
- [23] Lamb L., Tea Quart. (Colombo), 11, 103, 1938.
- [24] Deijs W., Rec. trav. chim. Pays-Bas, 58, 805, 1939.
- [25] Niernstein M., Analyst, 61, 294, 1936.
- [26] Russel A., Chem. Rev., 17, 155, 1955.
- [27] Bradfield A., Penney M. & Wright W., J. Chem. Soc., 31, 1947.
- [28] Oshima Y., Ka N., Chem. Abstr., 31, 1407, 1937.
- [29] Tsujimura M., Chem. Abstr., 31, 7419, 1937.
- [30] Tsujimura M., Chem. Abstr., 41, 5924, 1947.
- [31] Цвет М., Труды Варшавского общества естествоиспытателей, отд. биол., 14, 20, 1903
- [32] Цвет М., Ber. Bot. Ges., 24, 384, 1906.
- [33] Цвет М., Хромофиллы в растительном и животном мире, Варшава, 1910.
- [34] Martin A. & Synge R., Biochem. J., 35, 1358, 1941.
- [35] Bradfield A. & Penney M., J. Chem. Soc., 2249, 1948.
- [36] Курсанов А. и Джемухадзе К., Биохимия, 13, 61, 1948.
- [37] Запрометов М., Биохимия, 17, 97, 1952.
- [38] Запрометов М., Труды комиссии по аналитичес-