

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Fachgebiet Obstbau

**EINFLUSS VON
KLIMA UND KULTURMASSNAHMEN
AUF WERTGEBENDE INHALTSSTOFFE DER ERDBEERE**

Melanie Anke Josuttis

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktor der Naturwissenschaften

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. J. Meyer

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.-Prof. Dr. D. R. Treutter
2. Univ.-Prof. Dr. W. Schwab
3. Prof. Dr. H. Dietrich (Hochschule Geisenheim)

Die Dissertation wurde am 12.11.2012 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 15.03.2013 angenommen.

Kurzfassung

Sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe sind verantwortlich für viele Funktionen im Pflanzenreich wie z. B. Anpassung der Pflanzen an ihre Umwelt oder Abwehrmechanismen. Insbesondere phenolische Verbindungen werden mit einer positiven Auswirkung auf die menschliche Gesundheit in Zusammenhang gebracht. Erdbeeren (*Fragaria x ananassa* Duch.) sind eine effiziente Quelle für solche bioaktiven Verbindungen. In der vorliegenden Arbeit wurde die Variation von bioaktiven Substanzen in Erdbeeren aufgrund von verschiedenen Umweltbedingungen und Kultivierungstechniken untersucht. Um diese beiden Einflussgrößen neben dem Genotyp zu beurteilen und um die Praxisrelevanz zu berücksichtigen, wurden z. B. Veränderungen von konventionellen Qualitätsparametern wie Gesamtsäure, Trockensubstanz sowie agronomische Parameter wie Fruchtgröße, Ertrag und Blattfläche herangezogen. Antioxidative Testsysteme sind eine effektive Möglichkeit, um eine Reihe von bioaktiven Substanzen schnell zu bestimmen. Daher wurden die Testmethoden Gesamtphenole, Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) und Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) miteinander verglichen und auf das Mikrotiterplattenformat optimiert. Auf diese Weise wurde im Vergleich zur Küvettenanwendung der Probendurchsatz erhöht, wodurch eine kürzere Analysezeit erreicht wurde.

In einem Basisexperiment wurde die Auswirkung verschiedener Luft- und Bodentemperaturen auf die Gehalte von bioaktiven Substanzen der Erdbeeren ('Elsanta') unter Gewächshausbedingungen untersucht. Erdbeeren, die in einer kühlen Umgebung (Tag/Nacht: 16 °C/12 °C) kultiviert wurden, hatten eine geringere antioxidative Kapazität (Gesamtphenole, TEAC, ORAC) als Erdbeeren, die in einer wärmeren Umgebung (Tag/Nacht: 22 °C/16 °C) aufwuchsen. Dies war auf niedrigere Gehalte von Gesamtanthocyanen, Proanthocyanidinen (PAC), Ellagtanninen (ET) und Kämpferol-3-malonylglucosid zurückzuführen. Die Ascorbinsäuregehalte der Früchte, die in der kühleren Umgebung heranwuchsen, waren höher im Vergleich zu denen, die in der wärmeren Umgebung kultiviert wurden. Eine Erhöhung der Bodentemperatur auf 26 °C, bei der Variante der wärmeren Umgebung, führte zu keiner zusätzlichen Akkumulation von Anthocyanen oder anderen Phenolen in der Frucht, mit Ausnahme von *p*-Cumaroyl-Glucose. Die PAC-Gehalte waren sogar niedriger in Früchten, die auf der Variante mit beheiztem Boden heranreiften.

Weitere Einflüsse von Umweltfaktoren wurden unter Freilandbedingungen untersucht. Dabei zeigten Untersuchungen zu saisonalen Effekten, dass die Gehalte an sekundären

Inhaltsstoffen der Erdbeere stark vom Probenahmezeitpunkt abhingen. Die Monatsmittelwerte an bioaktiven Inhaltsstoffen verringerten sich während der Erntezeit von Anfang Juli bis Ende September aufgrund kühlerer Temperaturen und einer verkürzten Tageslänge. Lediglich der Gehalt an Vitamin C wies wegen kühlerer Temperaturen einen Anstieg während des Ernteverlaufs auf.

Darüber hinaus wurde der Einfluss von vier verschiedenen Standorten in Europa – die in einem Gebiet zwischen Stjørdal in Norwegen (63°36' N) und Conthey in der Schweiz (46°12' N) lagen – auf bioaktive Substanzen in Erdbeeren an drei verschiedenen Genotypen ('Clery', 'Elsanta' und 'Korona') erforscht. Innerhalb einer Sorte ließen sich anhand der Gehalte an bioaktiven Inhaltsstoffen die verschiedenen Standorte unterscheiden. Dieser Effekt war stärker als die lokalbedingten Unterschiede durch den Probenahmetermin oder den Jahreseinfluss. Als zentrales Ergebnis hatten die nördlichen Proben im Allgemeinen niedrigere Anthocyanengehalte als die südlichen. Im Gegensatz dazu stieg – bezogen auf das Frischgewicht – der Gehalt an Vitamin C und die antioxidative Kapazität (Gesamtphenole, TEAC, ORAC) generell mit höherem Breitengrad an. Wie Messungen an PAC und einzelnen Polyphenolen (HPLC) zeigten, waren die höheren Gehalte vor allem auf Unterschiede der Tannin-Komponenten zurückzuführen. Um die Tannin-Komponenten detaillierter zu untersuchen, wurden ausgewählte Proben mittels einer High-Throughput-Flüssigkeitschromatographie-Massenspektrometrie (LC-MS)-Methode und multivariater statistische Analyse analysiert. Erdbeersorten von verschiedenen Standorten in Europa zeigten Unterschiede im ET/PAC-Gleichgewicht. Zum Beispiel hatten Schweizer Früchte der Sorte 'Elsanta' im Vergleich zu Früchten aus Deutschland und Dänemark höhere ET-Signale als diejenigen, die von PAC abgeleitet wurden. Dieser allgemeine Trend zu verändertem ET/PAC-Gleichgewichten wurde durch konventionelle LC-MS-Analysen bestätigt. Spezifische Veränderungen der ET-Zusammensetzung waren für die Verschiebung des ET/PAC-Gleichgewichts verantwortlich.

Der Einfluss von Anbaumaßnahmen auf bioaktive Inhaltsstoffe wurde anhand von schwarzer und weißer Mulchfolie in Kombination mit dem ebenerdigen und dem Dammanbau untersucht. Der größte Unterschied bestand zwischen der Kontrollvariante (ebenerdiger Anbau, direkt im gewachsenen Boden) und dem Dammanbau mit schwarzer Mulchfolie. Durch die Folienvariante wurden die antioxidative Kapazität (Gesamtphenole, TEAC, ORAC) um bis zu 30 %, einzelne farblose Phenole bis zu 20 %, Gesamtanthocyane um 16 % und individuelle Anthocyane bis zu 67 % gesteigert. Darüber hinaus wurde die

Trockenmasse um 26 % und die Zucker (°Brix) um 18 % erhöht, was zu einer Verbesserung der organoleptischen Eigenschaften der Früchte führte.

Um kultivierungsbedingte Einflüsse zu untersuchen, wurden in einem zweiten Versuch Erdbeeren in einem Tunnel mit zwei Folien, die sich in ihrer UV-Transparenz unterschieden, sowie unter Freilandbedingungen kultiviert. Die erste Folie war UV-B undurchlässig, wohingegen die UV-B Transmission der zweiten verwendeten Folie 70 % betrug. Erdbeeren waren in Bezug auf die Gehalte an Ascorbinsäure und Summenparameter wie Gesamtanthocyane und antioxidative Kapazität (Gesamtphenole, TEAC, ORAC) UV-unempfindlich. Allerdings wurden einzelne Phenole durch die Abwesenheit von UV-Strahlung beeinflusst. Im Vergleich zu Freilandfrüchten wurde der Gehalt des Anthocyan Cyanidin-3-glucosid und die Flavonole Quercetin-3-glucuronid und Kämpferol-3-glucosid in den Früchten unter UV-blockierenden Bedingungen verringert. Bei Verwendung der UV-B-transparenten Folie wurden die genannten Substanzen bis annähernd auf die Gehalte des Freilandniveaus gebildet. Als zentrales Ergebnis kann festgehalten werden, dass die durch den Genotyp bedingten Effekte auf sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe im Allgemeinen stärker waren als Umwelteffekte oder kultivierungsbedingte Einflüsse.

Abstract

Secondary plant compounds are attributed to many functions in the plant kingdom related to environmental adaption or defense tools. Furthermore, especially phenolic compounds are related to beneficial effects on human health. Strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.) are an efficient source for such bioactive compounds. In this study, the variability of bioactives in strawberry affected by different environmental conditions and cultivation techniques was evaluated. In order to assess these changes and to classify the practice relevance, a number of parameters were considered, e.g., climatic conditions, genotype, conventional quality parameters like titratable acidity or dry matter and agronomic parameters like fruit size, yield, and leaf area. Antioxidant assays are an effective possibility to quickly determine a number of bioactives. Therefore, the test methods total phenols, Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC), and Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) were compared and optimized on a microplate format. In comparison to the use of cuvettes, the sample throughput was increased by achieving a shorter analysis time.

As basic experiment, the effects of different air and soil temperatures on the levels of bioactive components in strawberry fruit ('Elsanta') were studied under greenhouse conditions. Strawberries grown in the cool environment (day/night: 16 °C/12 °C) had a lower antioxidant capacity, in terms of their total phenols content, TEAC, and ORAC, than strawberries produced in the warmer environment (day/night: 22 °C/16 °C). This was due to lower concentrations of total anthocyanins, proanthocyanidins (PAC), total ellagitannins (ET), and kaempferol-3-glucoside-malonate. On the other hand, ascorbic acid concentrations in fruit grown in the cooler environment were higher compared to fruit grown in the warmer environment. An increase in soil temperature to 26 °C in the warmer environment did not result in any additional accumulation of anthocyanins, or any other phenolics in the fruit, except for *p*-coumaroyl glucose. However, the concentrations of PAC were even lower in fruit grown with heated soil.

Other environmental effects were investigated under open-field conditions. Investigations on seasonal effects showed that the sampling date affected strongly strawberry bioactives. Moreover, the monthly mean results of phytochemicals decreased during the harvest season from the beginning of July to the end of September due to cooler temperatures and a shorter photoperiod. Only the content of vitamin C showed an increase or no changes during the harvest period due to cooler temperatures.

Furthermore, the effect of four different growing locations from Stjørdal, Norway (63°36' N) to Conthey, Switzerland (46°12' N) on the composition of bioactives in strawberry of three genotypes (cvs Clery, Elsanta and Korona) was evaluated. Differences in bioactive compounds were distinguishable regarding different locations within a cultivar. This effect was stronger than local variations by sampling date or even year-to-year effects. As a result, the northern samples had principally lower anthocyanin amounts than the southern ones. In contrast, the content of vitamin C and the antioxidant capacity (total phenols, TEAC, ORAC) was generally increased with higher latitudes calculated on a fresh weight basis. Results of PAC and individual polyphenols detected by high performance liquid chromatography (HPLC) indicated that the higher contents were mainly due to tannin-related components. Therefore selected samples were analysed with the focus on compositional diversity of tannins using a high-through-put liquid chromatography mass spectrometric (LC-MS) technique and multivariate statistical analysis. Varieties grown at different locations across Europe showed differences in their ET/PAC balance. For example, 'Elsanta' grown in Switzerland had higher levels of ET-derived signals than those derived from PACs compared to the same variety grown in Germany and Denmark. This general trend to altered ET/PAC balance was confirmed by conventional LC-MS analysis which also highlighted that specific changes in ET composition, rather than increases in all ET components, was responsible for the shift in ET/PAC balance.

The effects of cultivation technique on bioactives were assessed by comparing black and white mulching foil in combination with flat, matted row, and high bed cultivation. The strongest effect was observed between the control treatment (matted row bare soil) and high bed cultivation covered with black plastic mulch. The latter treatment resulted in an increase of antioxidant capacity (total phenols, TEAC and ORAC) of up to 30%, individual colourless phenolics of up to 20%, total anthocyanins up to 16% and individual anthocyanins of up to 67% in the fruit. Additionally, the dry matter was increased by 26%, and the total sugar (°Brix) by 18% which led to an improvement in organoleptic properties of the fruit.

In a second cultivation trial, strawberries were grown in a tunnel covered with two films differing in their ultraviolet transparency, as well as under open-field conditions. One applied film was not transparent for UVB radiation, whereas the second film transmitted 70% of incoming UVB radiation. Strawberries were UV-unresponsive in view of the content of ascorbic acid and sum parameters such as total anthocyanins and antioxidant

capacity (total phenols, TEAC, ORAC). However, individual phenolics were affected in the absence of UV radiation. The contents of the anthocyanin cyanidin-3-glucoside and the flavonols quercetin-3-glucuronide and kaempferol-3-glucoside were decreased in the fruit grown under UV blocking film compared to open-field grown strawberries. By means of the UV transparent film, the content of the mentioned flavonoids were enhanced up to similar amounts like in open-field grown strawberries. In conclusion, effects of genotype on secondary plant compounds were generally stronger than environmental or cultivation effects.

Inhaltsverzeichnis

Kurzfassung	II
Abstract	V
Abkürzungsverzeichnis	XI
Publikationsliste	XII
Abbildungsverzeichnis	XIII
Tabellenverzeichnis	XV
1 Einleitung & Zielsetzung	1
1.1 Hintergrund	2
1.2 Problemstellung und Zielsetzung	3
1.3 Struktur der Arbeit	4
2 Stand des Wissens	5
2.1 Wertgebende Inhaltsstoffe der Erdbeere	6
2.2 Funktion und Biosynthese von sekundären Inhaltsstoffen der Erdbeere	8
2.3 Bioaktive Inhaltsstoffe in Erdbeeren aus Ernährungssicht	11
2.4 Optimierung der Fruchtqualität durch wertgebende Inhaltsstoffe	13
2.4.1 Variationen aufgrund des genetischen Hintergrundes	14
2.4.2 Beeinflussung der sekundären Inhaltsstoffe durch externe Faktoren während des Anbaus	15
2.4.3 Einfluss der Umgebungstemperatur	15
2.4.3.1 CO ₂ -Gehalt der Atmosphäre	16
2.4.3.2 Einfluss von Licht und Tageslänge	17
2.4.3.3 Einfluss des Anbaustandortes	17
2.4.3.4 Trockenstress	19
2.4.3.5 Einfluss der Nährstoffzufuhr und Salzstress	19
2.4.3.6 Anwendung verschiedener Kulturmaßnahmen bei Erdbeeren	21
2.4.3.6.1 Anwendung von Bodenbedeckungsmaßnahmen	21
2.4.3.6.2 Anbau in Folienhäusern	23
2.4.3.6.3 Ökologischer Anbau	24
2.4.3.6.4 Weitere Maßnahmen im Rahmen der Kultivierung von Erdbeeren	25
2.5 Analyse von phenolischen Inhaltsstoffen	26
2.5.1 Probematerial und Extraktion	26
2.5.2 Bestimmung der antioxidativen Kapazität	27
2.5.3 Weitere Summenparameter mittels kolorimetrischer Methoden	29
2.5.4 Chromatographische Verfahren und Detektionsmethoden	29

3 Auswahl von Material und Methoden	31
3.1 Hintergrund und Aufbau	32
3.2 Pflanzmaterial und Versuchsaufbau.....	32
3.3 Behandlungen und Versuchsbeschreibung	32
3.4 Wahl des Probenmaterials, Extraktionsbedingungen und Analysenparameter	34
3.5 Testsysteme zur Messung von antioxidativen Inhaltsstoffen: Anwendung, Möglichkeiten und Grenzen – ein Methodenvergleich (<i>Originalpublikation</i>).....	36
4 Effects of air and soil temperatures on the chemical composition of fruit and agronomic performance in strawberry (<i>Fragaria × ananassa</i> Duch.) <i>(Originalpublikation)</i>	47
5 Einfluss der Erntesaison auf wertgebende Inhaltsstoffe am Beispiel einer remontierenden Sorte	55
5.1 Einleitung.....	56
5.2 Material & Methoden.....	56
5.2.1 Versuchsaufbau	56
5.2.2 Chemische Analyse	57
5.2.3 Statistische Auswertung	57
5.3 Ergebnisse	57
5.3.1 Umweltfaktoren	57
5.3.2 Ertrag, Fruchtgröße und Verteilung der Fruchtart.....	60
5.3.3 Konventionelle Qualitätsparameter	63
5.3.4 Gesundheitlich relevante Inhaltsstoffe	64
5.3.4.1 Bioaktive Inhaltsstoffe als Summenparameter.....	64
5.3.4.2 Anthocyane und farblose Phenole (HPLC).....	67
5.4 Diskussion.....	69
6 A comparison of bioactive compounds of strawberry affected by genotype and latitude (<i>Originalpublikation</i>).....	75
7 Genetic and environmental effects on tannin composition in strawberry (<i>Fragaria x ananassa</i>) varieties grown in different European locations (<i>Originalpublikation</i>)	99
8 Untersuchungen zum Einfluss von Bodenbedeckungsmaßnahmen auf wertgebende Inhaltsstoffe der Erdbeere	111
8.1 Einleitung.....	112
8.2 Material & Methoden.....	113
8.2.1 Versuchsaufbau	113
8.2.2 Sensorische Beurteilung	113
8.2.3 Chemische Analyse	114
8.2.4 Auswertung.....	114
8.3 Ergebnisse	114
8.3.1 Umweltfaktoren	114

8.3.2	Ertrag und Fruchtgröße.....	117
8.3.3	Konventionelle Qualitätsparameter	118
8.3.4	Sensorische Qualität	120
8.3.5	Einfluss auf gesundheitlich relevante Inhaltsstoffe	121
8.3.5.1	Antioxidative Kapazität, Gesamtanthocyane und Vitamin C	121
8.3.5.2	Einfluss auf phenolische Verbindungen.....	123
8.3.5.2.1	Anthocyane	123
8.3.5.2.2	Farblose Phenole	125
8.4	Diskussion.....	126
9	Solar UVB response of bioactives in strawberry (<i>Fragaria x ananassa</i> Duch. L.): A comparison of protected and open-field cultivation (Originalpublikation).....	131
10	Bewertung, Fazit & Ausblick	143
10.1	Zentrale Ergebnisse der Zielsetzung.....	144
10.2	Gegenüberstellung der Ergebnisse und Abschlussdiskussion	145
10.3	Fazit und Ausblick	156
11	Literaturverzeichnis.....	158
12	Appendix	180
	Danksagung.....	184
	Lebenslauf.....	186

Abkürzungsverzeichnis

CCC	Counter Current Chromatography
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
PDAD	Photodioden Array Detektor
DMAZA	4-Dimethylamino-Zimtaldehyd
DNA	Desoxyribonukleinsäure (Desoxyribonucleic Acid)
DPPH	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazylphenyl
EC-Wert	Elektrische Leitfähigkeit (Electrical Conductivity)
ET	Elektronentransfer (Electron-Transfer)
FG	Frischgewicht
FRAP	Ferric Reducing Ion Antioxidant Power
GAE	Gallic Acid Equivalent
GWH	Gewächshaus
GC	Gaschromatographie
HAT	Wasserstoffatomtransfer (Hydrogen-Atom-Transfer)
HHDP	Hexahydroxydiphenyl
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (High Performance Liquid Chromatography)
HSCCC	High Speed Counter Current Chromatography
KW	Kalenderwoche
MS	Massenspektrometer
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity
PAC	Proanthocyanidine
PAR	photosynthetisch aktive Strahlung (photosynthetically active radiation)
RNA	Ribonukleinsäure (Ribonucleic Acid)
RP-18	Reversed Phase
T	Temperatur mit T _{min} (minimale Tagestemperatur), T _{max} (maximale Tagestemperatur) und T _{mittel} (mittlere Tagestemperatur)
TE	Trolox äquivalent
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidative Capacity
TS	Trockensubstanz
UV	Ultraviolett

Publikationsliste

Folgende wissenschaftliche Artikel sind im Rahmen dieser Arbeit entstanden und sind z. T. als Kapitel in diese publikationsbasierte Dissertation wie folgt integriert:

(Peer-reviewed)

Josuttis, M., McDougall, G.J., Verrall, S., Stewart, D. und Krüger, E., Genetic and environmental effects on tannin composition in strawberry (*Fragaria x ananassa*) varieties grown in different European locations, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 64 (2013) 790-800.

(Kapitel 7)

Krüger, E., **Josuttis, M.,** Nestby, R., Toldam-Andersen, T.B., Carlen, C. und Mezzetti, B., Influence of growing conditions at different latitudes on strawberry growth performance, yield and quality, *Journal of Berry Research* 2 (2012) 143-157.

Josuttis, M., Carlen, C., Crespo, P., Nestby, R., Toldam-Andersen, T.B., Dietrich, H. und Krüger, E., A comparison of bioactive compounds of strawberry fruit from Europe affected by genotype and latitude, *Journal of Berry Research* 2 (2012) 73-95.

(Kapitel 6)

Josuttis, M., Dietrich, H., Patz, C.D. und Krüger, E., Effects of air and soil temperatures on the chemical composition of fruit and agronomic performance in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.), *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 86 (2011) 415-421.

(Kapitel 4)

Josuttis, M., Dietrich, H., Treutter, D., Will, F., Linnemannstöns, L. und Krüger, E., Solar UVB response of bioactives in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch. L.): A comparison of protected and open-field cultivation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58 (2010) 12692-12702

(Kapitel 9)

Josuttis, M., Krüger, E. und Dietrich, H., Influence of cultivation techniques on health beneficial components in strawberry, *Acta Horticulturae (ISHS)* 838 (2009) 205-206.

Krüger, E.; Dietrich, H.; **Josuttis, M.:** Effects of pre-harvest temperature, photoactive radiation and fruit thinning on strawberry bioactive compounds. *Acta Horticulturae (ISHS)* 838 (2009), 199-203.

(Ohne Peer-Review)

Josuttis, M., Hofmann, D., Patz, C.D. und Dietrich, H., Testsysteme zur Messung von antioxidativen Inhaltsstoffen: Anwendung, Möglichkeiten und Grenzen - ein Methodenvergleich, *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 106 (2010) 254-262.

(Kapitel 3.5)

Abbildungsverzeichnis

Abb. 2.1: Vereinfachte Darstellung der Biosynthese von ausgewählten phenolischen Verbindungen der Erdbeere nach Halbwirth et al. [97] und Almeida et al. [98].	9
Abb. 2.2: Regulation des Flavonoidmetabolismus in Erdbeerfrüchten nach Carbone et al. [76] während der Reifung mit den Reifestadien in Tagen nach der Anthese.	10
Abb. 2.3: Schematische Darstellung der Fruchtstellung bei Erdbeeren.	25
Abb. 5.1: Wöchentliche Einstrahlungssumme gemessen als PAR (mol m^{-2}) bzw. UVB (W m^{-2}) und Tageslänge (h) während der Versuchsdauer von Anfang Juli bis Ende September 2008 und 2009.	58
Abb. 5.2: Wöchentlich durchschnittliche Tagestemperatur (Mittel), Tagesminimumtemperatur (Min) und Tagesmaximumtemperatur (Max) in $^{\circ}\text{C}$ während der Versuchsdauer von Anfang Juli bis Ende September 2008 und 2009.	59
Abb. 5.3: Wöchentlicher Ertrag in g pro Pflanze und Probenahmen während der Versuchsdauer von Anfang Juli bis Ende September 2008 und 2009.	60
Abb. 5.4: Durchschnittliches wöchentliches Fruchtgewicht in g während der Versuchsdauer von Anfang Juli bis Ende September 2008 und 2009.	61
Abb. 5.5: Durchschnittliche Dauer in Tagen vom Blühbeginn bis zur Fruchtreife während der Versuchsdauer von Anfang Juli bis Ende September 2008 und 2009.	62
Abb. 5.6: Wöchentliche Fruchtverteilung primärer (■), sekundärer (●) und tertiärer (▲) Früchte während der Versuchsdauer von Anfang Juli bis Ende September 2008 (links) und 2009 (rechts).	62
Abb. 5.7: Mittlere Fruchtgehalte der konventionellen Qualitätsparameter während der Saison im Juli, August und September (2008 und 2009).	63
Abb. 5.8: Mittlere antioxidative Kapazität bestimmt als Gesamtphenole in μg Gallusäureäquivalent je g Frischgewicht, ORAC und TEAC als μmol Troloxäquivalent je g Frischgewicht der Früchte während der Saison im Juli, August und September (2008 und 2009).	64
Abb. 5.9: Mittlere Fruchtgehalte bezogen auf das Frischgewicht an Vitamin C, Proanthocyanidinen (PAC), Ellagsäure (bestimmt nach Hydrolyse der Ellagtannine) und Gesamtanthocyanen sowie Summe dieser während der Saison im Juli, August und September (2008 und 2009).	66
Abb. 5.10: Mittlere Fruchtgehalte bezogen auf das Frischgewicht an Cyanidin-3-O-glucosid (CYA 3-GLU), Pelargonidin-3-O-rutinosid (PEL 3-RUT), Pelargonidinderivat (PEL Derivat), Cyanidin-3-O-malonylglucosid (CYA 3-GLU-MAL), Pelargonidin-3-O-malonylglucosid (PEL 3-GLU-MAL), Pelargonidin-3-O-glucosid (PEL 3-GLU) und die Summe aller Anthocyane während der Saison im Juli, August und September (2008 und 2009).	67
Abb. 5.11: Mittlerer Fruchtgehalt an p-Cumaroyl-Glucose (p-CUM GLU), Ellagsäurederivat (EA Derivat), Quercetin-3-O-glucuronid (QUER 3-GLU), Kämpferol-3-O-glucosid einschließlich Kämpferol-3-O-glucosid (KAE 3-GLU), Kämpferol-3-O-malonylglucosid (KAE 3-GLU-MAL) während der Saison im Juli, August und September (2008 und 2009).	68
Abb. 8.1: Beispielhafter Tagesverlauf der Bodentemperatur vor (21. April 2009, links) und nach (25. Mai 2009, rechts) Stroheinlage in 5 cm Tiefe.	115
Abb. 8.2: Prozentuale Reflektion photosynthetisch aktiver Strahlung der eingesetzten Mulchmaterialien im Vergleich zur Einstrahlungsintensität (links 2008, rechts 2009).	116
Abb. 8.3: Tagesdurchschnittstemperatur in Geisenheim von Januar bis Ende Juni 2008 und 2009.	117
Abb. 8.4: Vergleich konventioneller Qualitätsparameter verschiedener Bodenbedeckungsmaßnahmen Varianten. Dargestellt als Mittelwert der prozentualen Abweichung der „Kontrolle“ pro Probenahmetermin.	

Daten werden als Mittelwert (n = 12, Damm SF n = 9) ± Standardabweichung angegeben. Signifikant unterschiedliche Ergebnisse sind mit verschiedenen Buchstaben gekennzeichnet (P < 0,05). 119

Abb. 8.5: Deskriptive Sensorik von Früchten der Varianten „Kontrolle“, „Damm WF“ und Damm SF 2008 (A) und 2009 (B). 121

Abb. 8.6: Vergleich der antioxidativen Kapazität, des Gesamtanthocyangehaltes und des Vitamin C-Gehaltes verschiedener Bodenbedeckungsmaßnahmen-Varianten. Dargestellt als Mittelwert der prozentualen Abweichung der „Kontrolle“ pro Probenahmetermin. 122

Abb. 8.7: Vergleich der Anthocyanzusammensetzung in den Früchten der untersuchten Varianten prozentual zur Kontrollvariante während der Saison 2008 und 2009. 124

Abb. 8.8: Vergleich der Zusammensetzung von farblosen Phenolen in den Früchten der untersuchten Varianten prozentual zur Kontrollvariante während der Saison 2008 und 2009. 126

Tabellenverzeichnis

Tab. 2.1: Phenolische Zusammensetzung und Vitamin C-Gehalt von verschiedenen Erdbeersorten.	7
Tab. 2.2: Ausgewählte externe Einflussfaktoren während des Anbaus auf sekundäre Fruchtinhaltsstoffe der Erdbeere.	14
Tab. 5.1: Mittlere klimatische Daten während des Saisonverlaufs im Juli, August und September bzw. während der gesamten Saison 2008 und 2009.	60
Tab. 8.1: Durchschnittliche Bodentemperaturdifferenzen zwischen Kontrollvariante vor und nach Stroheinlage und Bodenbedeckung mit Polyethylenfolie ebenerdig bzw. mittels Dammanbau.	115
Tab. 8.2: Durchschnittliche Blattfläche pro Pflanze zum Ernteende.	116
Tab. 8.3: Gesamtertrag pro Pflanze, durchschnittliches Fruchtgewicht und Erntebeginn verschiedener Bodenbedeckungsmaßnahmen-Varianten im Jahr 2008 und 2009.	118
Tab. 8.4: Qualitätsparameter der Kontrollvariante an zwei Probenahmeterminen (1. und 2. Erntewoche) im Jahr 2008 und 2009.	119
Tab. 8.5: Zucker/Säure-Verhältnis der Früchte der Bodenbedeckungsmaßnahmen-Varianten nach der Rangfolge im Jahr 2008 und 2009.	120
Tab. 8.6: Sensorische Bewertung der Früchte der Varianten „Kontrolle“, „Damm WF“ und Damm SF nach der Rangfolge im Jahr 2008 und 2009.	120
Tab. 8.7: Antioxidative Kapazität (Gesamtphenole, ORAC, TEAC), Gesamtanthocyane und Vitamin C in Früchten der „Kontrolle“, bezogen auf das Frischgewicht an zwei Probenahmeterminen (1. und 2. Erntewoche) im Jahr 2008 und 2009.	122
Tab. 8.8: Anthocyane in Früchten der Kontrollvariante an zwei Probenahmeterminen (1. und 2. Erntewoche), bezogen auf Frischgewicht im Jahr 2008 und 2009.	123
Tab. 8.9: Farblose Phenole in Früchten der „Kontrolle“ an zwei Probenahmeterminen (1. und 2. Erntewoche), bezogen auf das Frischgewicht im Jahr 2008 und 2009.	125
Tab. 10.1: Gegenüberstellung ausgewählter Ergebnisse unterschiedlicher Versuche unter Verwendung von verschiedenem Pflanzmaterial am Beispiel der Sorte 'Elsanta'	146
Tab. 12.1: Variationen von konventionellen Qualitätsparametern während der Saison (Remontierer) im Jahr 2008 und 2009, angeordnet nach der Kalenderwoche.	181
Tab. 12.2: Variationen der antioxidativen Kapazität während der Saison (Remontierer) im Jahr 2008 und 2009, angeordnet nach der Kalenderwoche.	181
Tab. 12.3: Variationen von bioaktiven Inhaltsstoffen während der Saison (Remontierer) im Jahr 2008 und 2009, angeordnet nach der Kalenderwoche.	182
Tab. 12.4: Variationen der einzelnen Anthocyane während der Saison (Remontierer) im Jahr 2008 und 2009, angeordnet nach der Kalenderwoche.	182
Tab. 12.5: Variationen der farblosen Phenole während der Saison (Remontierer) im Jahr 2008 und 2009, angeordnet nach der Kalenderwoche.	183

1

Einleitung & Zielsetzung

1.1 Hintergrund

Das Ernährungsverhalten und die Kaufentscheidung des Verbrauchers ist aufgrund eines größeren Gesundheitsbewusstseins im stetigen Wandel [1-3]. Funktionelle Lebensmittel, die neben ihrem Beitrag zur Ernährung zusätzliche positive Gesundheitseffekte aufweisen, werden dabei immer wichtiger [4]. Zudem wird die Zufuhr von frischem Obst und Gemüse aufgrund von dessen positiven Einflusses auf die Gesundheit durch verschiedene Kampagnen wie z. B. „5-a-day“ gefördert [5-7]. Die von der WHO bzw. World Cancer Research Fund empfohlene Menge von über 400 g bis 600 g am Tag wird jedoch nur von einem Teil der Bevölkerung konsumiert [8, 9]. Neben einem geringen kalorischen Wert zeichnet sich frisches Obst und Gemüse durch nennenswerte Gehalte an Ballaststoffen, Mineralstoffen, Vitaminen und sekundären Pflanzeninhaltsstoffen aus. Zahlreiche Studien beleuchten Gesundheitsvorteile, die sich aus sekundären Pflanzeninhaltsstoffen ergeben. Dabei werden diese zum größten Teil durch phenolische Inhaltsstoffe präsentiert, die durch ihre antioxidativen Eigenschaften positiv auf den Organismus wirken können [6, 10-17]. Phenolische Substanzen sollen wesentlich zur Verminderung von Risikofaktoren chronischer Krankheiten und somit zur Prävention dieser beisteuern [18, 19]. Die zugrunde liegenden Mechanismen wurden jedoch noch nicht vollständig aufgeklärt und verstanden. Die Zusammensetzung der Sekundärmetabolite in verschiedenen Lebensmitteln und deren tägliche Aufnahme wurde detailliert untersucht [20-29].

Eine intensiv untersuchte Gruppe von Früchten hinsichtlich ihres Ernährungswertes ist das Beerenobst [10, 15, 30, 31]. In diesem Zusammenhang wird vor allem Erdbeeren aufgrund von ökonomischen und agronomischen Faktoren eine hohe Relevanz zugesprochen [32-35]. Im Vergleich zu anderen Beerenobstarten werden Erdbeeren am stärksten produziert [36, 37] und sind in Deutschland mit Berücksichtigung auf die Anbaufläche und Produktionsmenge nach dem Apfel die wichtigste Obstkultur [38]. Gleichzeitig sind diverse Arten der Erdbeerkultivierung sowohl im Freiland als auch geschützt – im Gewächshaus oder Folientunnel - möglich [39, 40]. Neben den genannten spezies-übergreifenden Variationen in den Gehalten von gesundheitsrelevanten Inhaltsstoffen werden Unterschiede innerhalb einer Fruchtart beschrieben, die vor allem auf die Sorte zurückzuführen sind [41-52]. Zudem beeinflussen externe Faktoren den Gehalt an wertgebenden Pflanzeninhaltsstoffen [53, 54]. Während des Pflanzenwachstums und der Fruchtbildung können diese Inhaltsstoffe durch klimatisch bedingte Umweltfaktoren oder durch angewandte Kulturmaßnahmen in veränderten Mengen gebildet werden. Insbesondere aufgrund des Klimawandels und ständig optimierter

Anbautechniken herrscht auf diesem Gebiet stetiger Forschungsbedarf. Untersuchungen zu diesem Thema waren darum Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit.

1.2 Problemstellung und Zielsetzung

Um der zukünftigen Verbrauchererwartung, dass Obst und Gemüse eine ausgezeichnete Qualität und einen hohen Ernährungswert aufweist, gerecht zu werden, wurden im Rahmen dieser Arbeit Untersuchungen auf dem Gebiet von Vorernteprozessen durchgeführt. So wurde der Effekt von Kulturtechniken und klimatisch bedingten Umwelteinflüssen wie Temperatur und Licht auf wertgebende Fruchtinhaltsstoffe der Erdbeere analysiert. Zu den wertgebenden Inhaltsstoffen zählen in diesem Zusammenhang antioxidativ wirkende Substanzen wie phenolische Komponenten und Ascorbinsäure sowie geschmacksgebende Parameter wie Zucker und Säure. Die durchgeführten Studien sollten vor allem praxisnah sein und Anbauern langfristig eine Hilfestellung leisten. Aufgrund dessen wurden für alle beschriebenen Versuche ebenso Ertragsparameter dokumentiert. Die in der vorliegenden Arbeit ermittelten wertgebenden Inhaltsstoffe sollten somit auch unter diesem Aspekt beurteilt werden.

Indem Erdbeeren als Modellpflanze gewählt wurden, konnten zwei Vorteile beim Anbau von Erdbeeren genutzt werden: eine verhältnismäßig kurze Kulturzeit sowie eine zeitliche Versetzung der Versuche. Letzteres war besonders durch die Wahl des Pflanzmaterials wie Grünpflanzen, Frigopflanzen oder Traypflanzen oder dem Erdbeertyp einmaltragend bzw. remontierend möglich [39, 55]. Zudem gibt es verschiedene mögliche Kulturtechniken, die beim Anbau von Erdbeeren angewandt werden. Ausgewählte Kulturmaßnahmen wurden in der vorliegenden Arbeit untersucht [55]. Die wesentlichen Ziele dieser Arbeit können wie folgt formuliert werden:

- (I) Die Optimierung der Anwendung von Messmethoden zur Bestimmung von antioxidativ wirksamen Inhaltsstoffen
- (II) Untersuchungen zum Einfluss von Temperatureffekten auf wertgebende Fruchtinhaltsstoffe der Erdbeere unter Gewächshausbedingungen als Beurteilungsgrundlage für:
 - a) Die Charakterisierung konventioneller und ernährungsrelevanter Qualitätsmerkmale der Erdbeerfrucht unter Einflussnahme von unterschiedlichen Umgebungsbedingungen wie Klima oder im Rahmen eines Saisonverlaufes unter Berücksichtigung des Genotyps.

- b) Die Einflussnahme ausgewählter Kultivierungstechniken auf konventionelle und ernährungsrelevante Qualitätsmerkmale der Erdbeerfrucht.

1.3 Struktur der Arbeit

Die vorliegende Arbeit besteht aus zehn Kapiteln. Nach einer kurzen Einleitung in Kapitel 1 fasst Kapitel 2 die zum Thema dieser Arbeit wissenschaftlich angrenzende und überschneidende Literatur mit dem Schwerpunkt von Studien an Erdbeeren als Diskussionsgrundlage zusammen. In Kapitel 3 wird die Auswahl der angewandten Methoden erläutert, die in den folgenden Kapiteln detailliert beschrieben werden. Die Kapitel 4 bis 9 umfassen die Vorstellung der einzelnen durchgeführten Versuche und sind in Einleitung, Material & Methoden, Ergebnisse und Diskussion gegliedert. Dabei werden in Kapitel 4 bis 7 Effekte von Umweltfaktoren – teilweise unter Berücksichtigung des Genotyps – vorgestellt, gefolgt von den Einflüssen (Kapitel 8 & 9), die kultivierungsbedingt festgestellt wurden. Die wesentlichen aus dieser Arbeit hervorgegangenen Veröffentlichungen wurden so wie publiziert bzw. eingereicht direkt als Kapitel integriert. In Kapitel 10 werden die zentralen Ergebnisse miteinander verknüpft und bewertet.

2

Stand des Wissens

2.1 Wertgebende Inhaltsstoffe der Erdbeere

Die Erdbeere gehört zur Familie der *Rosaceae*. Die oktaploide Kulturerdbeere (*Fragaria x ananassa*) besitzt 56 Chromosomen [39]. Ihre Früchte sind im botanischen Sinne Sammelnussfrüchte und keine Beeren, dennoch werden sie so wie Himbeer- oder Brombeerfrüchte im allgemeinen Sprachgebrauch zum Beerenobst gezählt [56, 57]. Die Früchte sind bekannt für ihren einzigartigen Geschmack und gesundheitlichen Nutzen [39]. Erdbeeren bestehen zu über 90 % aus Wasser gefolgt von 4,9 % Zucker (Fructose, Glucose und Saccharose), Ballaststoffen (2 %), organischen Säuren (0,9 %) und Mineralstoffen (0,4 %) wie Kalium, Calcium, Magnesium, Eisen, Zink und Mangan.

Weiterhin sind Erdbeerfrüchte mit durchschnittlich $588 \mu\text{g g}^{-1}$ eine effiziente Quelle für Vitamin C und enthalten signifikante Mengen an Folsäure, Vitamin E und den meisten B-Vitaminen [58]. Neben den genannten Nährstoffen enthalten Erdbeeren eine Reihe von nicht-nutritiven Phytochemikalien, denen eine positive gesundheitliche Wirkung zugeschrieben wird [34, 59]. Dazu zählen vor allem phenolische Substanzen wie Anthocyane, Flavonole, Flavanole oder kondensierte Tannine (Proanthocyanidine), Phenolcarbonsäuren und hydrolysierbare Tannine (Gallotannine und Ellagtannine) [60-62]. Tab. 2.1 stellt als Übersicht, die verschiedenen Gehalte dar. Die Anthocyane sind für die Farbgebung der Früchte verantwortlich. Insgesamt wurden mehr als 25 verschiedene Anthocyane in Erdbeeren identifiziert [63]. Pelargonidin-3-*O*-glucosid ist mit einem Anteil von 70 bis 90 % das Hauptanthocyan der Erdbeere [41, 63, 64]. Daneben kommen in nennenswerten Gehalten Pelargonidin-3-*O*-rutinosid, Pelargonidin-3-*O*-malonylglucosid, Cyanidin-3-*O*-glucosid und Cyanidin-3-*O*-malonylglucosid vor (Tab. 2.1), aber es wird auch Pelargonidin-3-*O*-glucosidsuccinat bzw. Cyanidin-3-*O*-glucosidsuccinat berichtet [65, 66].

Eine weitere Untergruppe der Flavonoide sind Flavonole, diese sind im Vergleich zu anderen phenolischen Verbindungen in geringeren Gehalten zu finden (Tab. 2.1). In Erdbeeren finden sich Quercetin- und Kämpferolglycoside [61, 62], wobei Quercetin-3-*O*-glucuronid als Hauptvertreter dieser Substanzgruppe identifiziert wurde [41, 64]. Des Weiteren sind hohe Mengen an Flavan-3-olen und Proanthocyanidinen (PAC) nachzuweisen [64]. Häufig werden die Gehalte an PAC in der Literatur jedoch unterschätzt. Die Gründe hierfür sind eine schlechte Wasserlöslichkeit, ein geringer Extinktionskoeffizient beim Absorptionsmaximum (280 nm), Koelution bzw. Überlappung von anderen phenolischen Verbindungen mit stärkerer UV-Absorption und die schlechte Trennbarkeit von PAC mit höheren Polymerisationsgrad [41, 64]. Ferner wird von Phenolcarbonsäuren berichtet, wobei neben Cumarsäurekonjugaten teilweise auch

Benzoessäure und Ferulasäure erwähnt werden, deren Vorkommen vermutlich sortenspezifisch ist [64, 67]. Außergewöhnlich in Erdbeeren ist vor allem das Vorkommen von hydrolysierbaren Tanninen, die in Früchten vergleichsweise selten auftreten und sich hauptsächlich auf Früchte der *Rosaceae* (Himbeere, Brombeere) und auf Nüsse beschränken [68]. Ellagtannine bestehen aus Hexahydroxydiphensäure (HHDP) und Gallussäureeinheiten, die mit Glucosebausteinen verestert sind. Ellagtannine wurden nach saurer Hydrolyse bisher häufig als Ellagsäure bestimmt [48, 69-71]. Jüngere Studien hingegen identifizierten und quantifizierten auch die intakten Ellagtannine [41, 62, 64, 72].

Tab. 2.1: Phenolische Zusammensetzung und Vitamin C-Gehalt von verschiedenen Erdbeersorten.

Substanzgruppe	Einzelverbindung	Gehalt ($\mu\text{g g}^{-1}$ FG)	Quelle
Anthocyane	Pelargonidin-3- <i>O</i> -glucosid	69–714	[41, 63-66, 70, 73]
	Pelargonidin-3- <i>O</i> -malonylglucosid	0–208	[41, 73]
	Pelargonidin-3- <i>O</i> -rutinosid	0–70	[41, 63-66, 70, 73]
	Cyanidin-3- <i>O</i> -glucosid	2,8–42	[41, 63-66, 70, 73]
	Cyanidin-3- <i>O</i> - malonylglucosid	0–10	[41]
	<i>Summe</i>	85–913	[41, 63-66, 70, 73]
Flavonole	Quercetin-3- <i>O</i> -glycoside	5–52	[41, 63-66, 73]
	Kämpferol-3- <i>O</i> -glycoside	0–21	[41, 63-66, 73]
Phenolcarbonsäuren	<i>p</i> -Cumaroyl hexose	3–136	[41, 63-66, 73]
	Ferulasäurederivat	0–21	[64]
Ellagsäurekonjugate	Ellagsäureglycosid	1,0–39,4	[41, 64-66, 69]
	Ellagsäure	2,0–19,1	[41, 64-66, 69, 70, 73]
Ellagtannine	Galloyl bis-HHDP	0–40	[64]
	Sanguiin-H6	3–95	[64]
	Lambertianin C	40–206	[64]
	Agrimoniin	58–138	[41]
	<i>Summe</i>	97–832	[29, 41, 48, 64, 69-71, 74]
Flavanole	Catechin	20–68	[41, 71, 73]
	Epicatechin	0–4,2	[75]
Proanthocyanidine	Dimere	43–161	[41, 76]
	Trimere	30–188	[41, 76]
	4 – 6mere	281	[76]
	7 – 10mere	239	[76]
	>10mere	758	[76]
	<i>Summe</i>	540–1680	[64, 76]
	<i>Gesamtsumme phenolischer Inhaltsstoffe</i>	753–3037	
	<i>Gesamtphenole nach Folin-Ciocalteu</i>	725–4434	[45, 69, 77-86]
	<i>Vitamin C</i>	401 - 1120	[46, 59, 87-91]

Damit ergibt sich eine Gesamtsumme an phenolischen Inhaltsstoffen in Erdbeeren zwischen 753–303 $\mu\text{g g}^{-1}$. Diese Angaben harmonieren mit den Daten für die Gesamtphenole nach Folin-Ciocalteu (vgl. Tab. 2.1). Hierbei ist zu berücksichtigen, dass wie auch bei anderen summarischen Methoden Vitamin C miterfasst wird [92].

Die eigentlichen Früchte der Erdbeerfrucht sind die Achänen, die auf dem verdickten Blütenboden verteilt sind [39, 93]. Bei der getrennten Untersuchung der Organe wie Achänen, Fruchtfleisch oder Fruchthaut zeigte sich, dass sich die einzelnen Komponenten in der phenolischen Zusammensetzung deutlich unterscheiden [94-98].

2.2 Funktion und Biosynthese von sekundären Inhaltsstoffen der Erdbeere

Polyphenole kommen im Pflanzenreich ubiquitär vor und besitzen diverse sekundäre Stoffwechselfunktionen [99]. Dazu zählen die Interaktionen mit Enzymen/Proteinen und Phytohormonen oder die Farbgebung von Blüten und Früchten und die damit verbundene Bestäubung und Ausbreitung der Samen. Darüber hinaus spielen diese sekundären Pflanzeninhaltsstoffe eine wesentliche Rolle in der Pflanzenabwehr, indem sie als Schutzmechanismen gegen abiotische und biotische Stressoren wirken. Zu den abiotischen Stressoren zählen z. B. Nährstoffmangel, Salz- oder Trockenstress und zu den biotischen Stressoren der Befall durch Herbivoren, Bakterien oder Pilze [99].

Die Biosynthese von Polyphenolen resultiert aus dem Shikimisäureweg [100]. Hieraus geht zum einen Gallussäure, die im Stoffwechsel von Erdbeerfrüchten als Ausgangssubstanz für die Bildung der hydrolysierbaren Tannine wie Ellagtannine dient, und zum anderen die Aminosäure Phenylalanin hervor [54, 73, 99, 101, 102]. Die letztgenannte Substanz fungiert als Prekursor der Phenylpropanoide aus denen *p*-Cumarsäure synthetisiert wird. Mittels Chalkon-Synthase (CHS) wird in weiteren Schritten das Flavonoidgrundgerüst gebildet. Bis zur Stufe der Anthocyane sind weitere Syntheseschritte erforderlich, die durch Chalkon-Isomerase (CHI), Flavanon-3 β -Hydroxylase (FHT), Dihydroflavonol-4-Reduktase (DFR) und Anthocyanidin-Reduktase (ANR) katalysiert werden. Ausgehend von Dihydroflavonolen werden mit Hilfe von Flavonol-Synthasen (FLS) Flavonole synthetisiert. Dagegen werden Flavan-3-ole durch Leucoanthocyanidin-Reduktase (LAR) und Anthocyanidin-Reduktase (ANR) gebildet, die als Ausgangssubstanz für die Proanthocyanidine dienen (Abb. 2.1). Allgemein katalysieren Flavonoid 3'-Hydroxylasen (F3'T) die Hydroxylierung am B-Ring, wodurch u. a. Kämpferol in Quercetin metabolisiert wird. Flavonoid-Glycosyl-Transferasen (FGTs) sind für die Glycosidierung der Endprodukte notwendig. Im Gegensatz zu sonstigen Kulturen werden in Erd-

beeren Pelargonidine als Hauptanthocyan gebildet, während in anderen Früchten eher Cyanidine, Malvidine, Delphinidine und Peonidine dominieren [43, 70, 103-106].

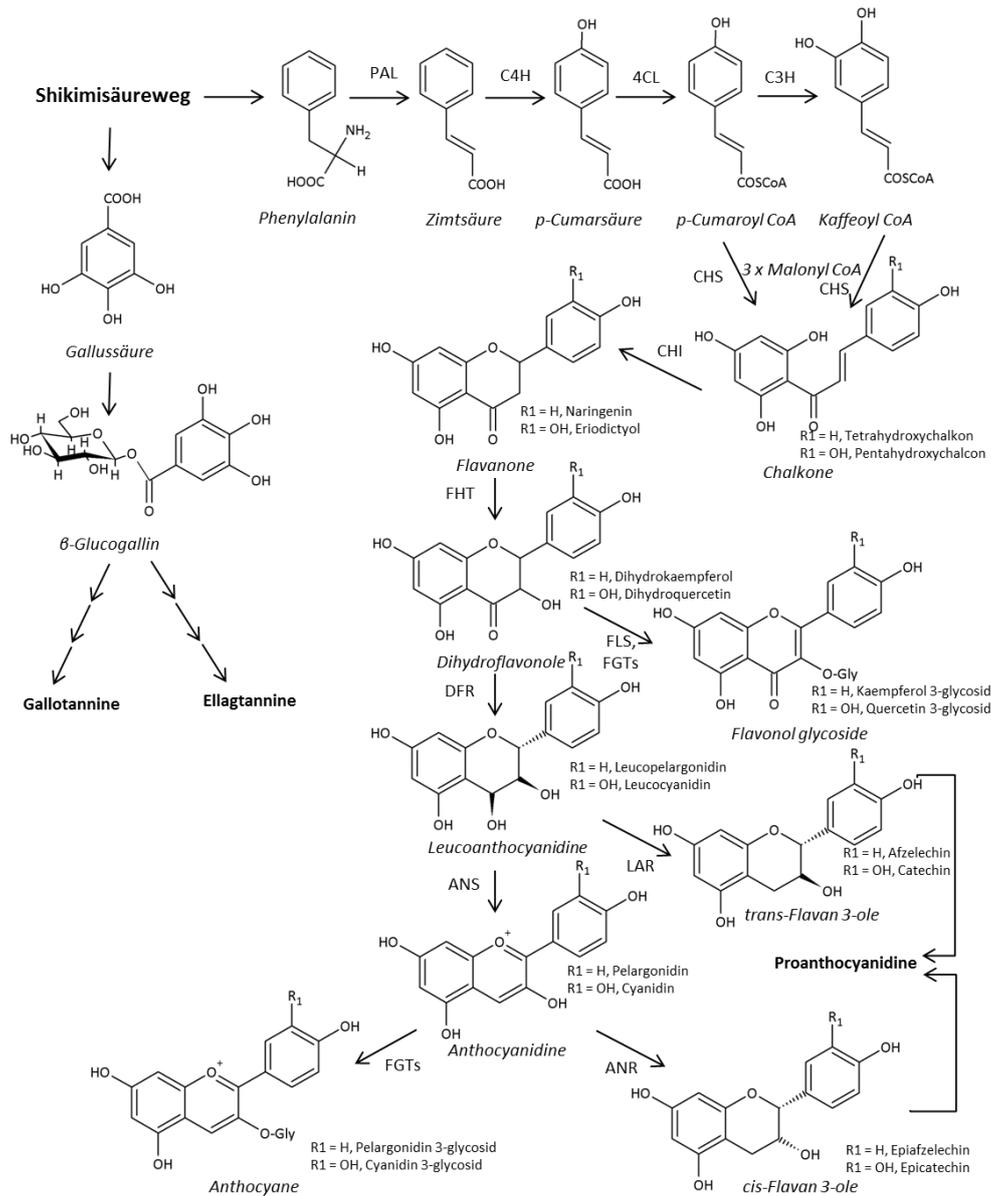


Abb. 2.1:

Vereinfachte Darstellung der Biosynthese von ausgewählten phenolischen Verbindungen der Erdbeere nach Halbwirth et al. [101] und Almeida et al. [102].

Abkürzungen: ANR, Anthocyanidin-Reduktase; ANS, Anthocyanidin-Synthase; C4H, Zimtsäure-4-Hydroxylase; CHI, Chalkon-Isomerase; CHS, Chalkon-Synthase; 4CL, *p*-Cumaroyl:CoA-Ligase; C3H, *p*-Cumaroyl-3-Hydroxylase; DFR, Dihydroflavonol-4-Reduktase; FGTs, Flavonoid-Glycosyl-Transferasen; FHT, Flavanon 3 β -Hydroxylase; FLS, Flavonol-Synthase; LAR, Leucoanthocyanidin-Reduktase; PAL, Phenylalanin-Ammonium-Lyase.

Die Genexpression der genannten Enzyme und somit auch die Bildung der einzelnen phenolischen Verbindungen ist stark von der Fruchtentwicklung und somit vom Reifegrad der Früchte abhängig [73, 97, 102, 107, 108]. Bereits in der Blüte sind Proanthocyanidine und Flavan-3-ole vorhanden [97, 109], was sich in den Gehalten der grünen Früchte widerspiegelt [73]. Im Verlauf der Reife nehmen die Gehalte jedoch stark ab (Abb. 2.2). Ähn-

liches gilt für Ellagsäure, Ellagsäurederivate und den aus Ellagsäure aufgebauten phenolischen Substanzen. Anthocyane und *p*-Cumarsäure hingegen sind in grünen Früchten nicht enthalten [73, 97]. Diese phenolischen Gruppen werden etwa 20 Tage nach der Anthese gebildet und steigen ab diesem Zeitpunkt stark an. Flavonole sind während des Reifeprozesses mit leichtem Abwärtstrend in konstanten Mengen vorhanden.

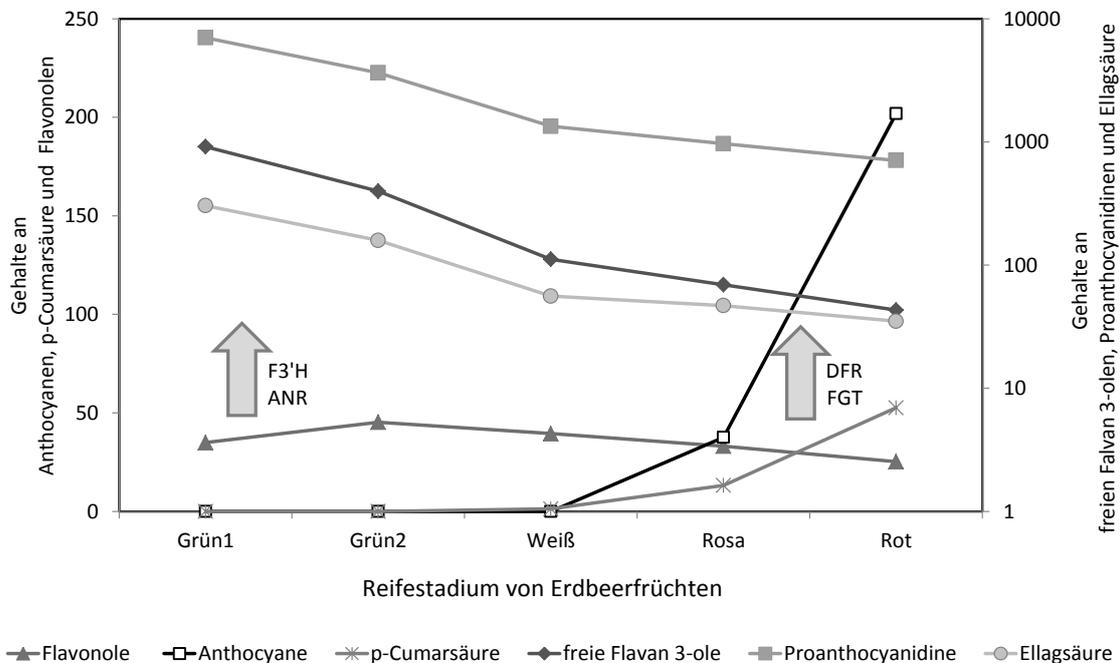


Abb. 2.2:

Regulation des Flavonoidmetabolismus in Erdbeerfrüchten nach Carbone et al. [73] während der Reifung mit den Reifestadien in Tagen nach der Anthese. „Grün1“ 7 bis 10 Tage, „Grün2“ 12–14 Tage, „Weiß“ ca. 20 Tage, „Rosa“ ca. 25 Tage und „Rot“ ca. 30 Tage nach der Anthese. Die Gehalte der phenolischen Gruppen sind angegeben in $\mu\text{g g}^{-1}$ Frischgewicht.

Die Expression der involvierten Gene für die Enzyme des Flavonoidmetabolismus wurde in drei Gruppen klassifiziert [73, 97, 101]. Carbone et al. [73] unterscheidet hier nach in:

- „Zwei-Phasen“ Gene: *CHS, CHI, FHT, LAR, ANS*
- „Ein-Phase“-Gene – hoch reguliert: *DFR, FGT*
- „Ein-Phase“-Gene – herunter reguliert: *FLS, ANR, F3'H*

Die Expression der „Zwei-Phasen“-Gene zeigt einen ersten Peak im frühen grünen Stadium und einen zweiten Peak während der Farbgebung der Früchte von Weiß zu Rot. Die hochregulierten „Ein-Phase“-Gene werden im Fruchtentwicklungsstadium von Weiß zu Rot verstärkt exprimiert. Dagegen sinkt das Transkriptionslevel der herunterregulierten „Ein-Phase“-Gene stetig während der Fruchtentwicklung. Glycosyl-Transferasen sind, wie

bereits erwähnt, für die Katalyse von aktivierten Zuckerbausteinen an den Substraten verantwortlich. Dabei existieren je nach Zuckerrest und Substrat wie Anthocyanidinen, Flavonolen oder Hydroxyzimtsäuren verschiedenste Enzymgruppen [98, 107, 108]. So katalysiert beispielsweise UDP-Glucose:Cinnamat-Glucosyl-Transferase die Glucosidierung von Cumarsäure und Hydroxyzimtsäure [107]. Die erwähnte Akkumulation von *p*-Cumaroyl-Glucose während des späten Reifestadiums von Erdbeeren harmoniert mit der Enzymaktivität dieser FGT.

Der Fokus der bisherigen Untersuchungen der Biosynthese von phenolischen Inhaltsstoffen, der unter dem Aspekt der Reifung von Erdbeeren erforscht wurde, lag hauptsächlich bei den Flavonoiden. Ellagtannine werden zwar beschrieben, doch beschränken sich die meisten Studien auf die Metabolite. Untersuchungen zur Genexpression oder Enzymaktivitäten sind bisher rar. Nichtsdestoweniger besteht auch auf der Ebene der Flavonoidbiosynthese weiterhin Forschungsbedarf, da die Regulation durch Transkriptionsfaktoren in Erdbeeren bisher noch relativ unbekannt ist [73].

Als wichtiger antioxidativer Inhaltsstoff der Erdbeere ist neben den phenolischen Inhaltsstoffen insbesondere das Vitamin C in Erdbeeren zu erwähnen. Während der Reifung konnten Tulipani et al. [91] an verschiedenen Erdbeersorten einen Trend zu höheren Gehalten in den reifen gegenüber den unreifen Früchten zeigen, allerdings waren diese Unterschiede nicht signifikant. Ein ähnliches Ergebnis wurde von Olsson et al. [110] beobachtet; der Vitamin C-Gehalt in Früchten der Sorte 'Senga Sengana' unterschied sich während der Reifung nicht signifikant, während bei der Sorte 'Honeoye', die höchsten Gehalte in der reifen Frucht beobachtet wurden. Ähnliche Vitamin-C-Gehalte bei unterschiedlichen Reifestadien konnten auch in den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Versuchen beobachtet werden [111].

2.3 Bioaktive Inhaltsstoffe in Erdbeeren aus Ernährungssicht

In den letzten Jahren zeigten zahlreiche Studien, dass eine an Obst und Gemüse reiche Ernährungsweise mit positiven Gesundheitseffekten assoziiert ist und verschiedenen chronischen Erkrankungen vorbeugt [112]. Als wichtigster Vertreter an hierfür verantwortlichen Inhaltsstoffen in Obst und Gemüse sind phenolische Inhaltsstoffe zu nennen, die durch ihre antioxidative Wirkung die Fähigkeit besitzen, freie Radikale abzufangen. So können Zellorganellen, DNA oder Zellmembranen vor oxidativen Schäden geschützt werden [18, 19]. Verschiedene Früchte wurden hinsichtlich ihrer antioxidativen Wirkung untersucht und verglichen. Dabei wurden *in vitro* unterschiedliche Testsysteme verwendet [93, 113-115]. Bei dem in diesem Zusammenhang erstellten Ranking heben sich neben

exotischen „Superfruits“ wie Goji, Açai oder Granatapfel vor allem das heimische Beerenobst wie Heidelbeere (*Vaccinium myrtillus*), Brombeere (*Rubus fruticosus agg.*), Himbeere (*Rubus idaeus*), Schwarze Johannisbeere (*Ribes nigrum*) oder Erdbeere ab. Dennoch ist zu berücksichtigen, dass diese Messungen nicht auf potentielle Gesundheitseffekte schließen lassen [116, 117]. In diesem Zusammenhang spielt die große Bandbreite und Variabilität von Polyphenolen in Früchten und die daraus folgende unterschiedliche Bioverfügbarkeit der einzelnen Substanzklassen, Absorptionsraten und die Bildung von aktiven Metaboliten eine wesentliche Rolle [118]. So unterscheidet sich die Absorption nicht nur vom chemischen Grundgerüst der phenolischen Inhaltsstoffe, wie Anthocyanen, Flavonolen oder Tanninen, sondern auch durch die Art der Glycosidierung. Tannine werden nur in sehr geringem Maße vom menschlichen Körper absorbiert, doch eine positive Wirkung beginnt vermutlich schon im Magen und setzt sich im ganzen Verdauungssystem fort, wodurch sich ein möglicher, vorteilhafter Gesundheitseffekt bereits ohne weitere Aufnahme ins Plasma einstellt [119-121]. Ferner ist die natürliche Fruchtmatrix und die damit verbundene Zusammensetzung der sekundären Inhaltsstoffe ein entscheidender Einflussfaktor. In diesem Zusammenhang wurden Studien zur Erforschung des Einflusses von Erdbeeren auf die Gesundheit durchgeführt, die im Review von Giampieri et al. [122] zusammengefasst sind. Aufgeführt sind dort Untersuchungen, die eine Verbindung zwischen dem Verzehr von Erdbeeren und einen positiven Effekt auf die menschliche Gesundheit wie Prävention von Entzündungen, Oxidativem Stress, Diabetes Typ-II, Übergewicht, verschiedenste Krebserkrankungen bzw. kardiovaskuläre und neurodegenerative Erkrankungen herstellen. Dennoch ist das Wissen auf diesem Gebiet immer noch spärlich und weitere Forschungen mit humanen Langzeitstudien sind notwendig [30, 122].

2.4 Optimierung der Fruchtqualität durch wertgebende Inhaltsstoffe

Zur Klasseneinteilung von Obst und Gemüse werden äußere Eigenschaften wie Größe, Farbe, Geruch und Beschaffenheit als Qualitätsmerkmale definiert, die in der Durchführungsverordnung (EU) Nr. 543/2011 geregelt sind. Darüber hinaus werden weitere sensorische Attribute wie die Konsistenz oder der Geschmack in die Beurteilung der Fruchtqualität einbezogen [123]. Aufgrund der erwähnten bioaktiven Wirkung von sekundären Pflanzeninhaltsstoffen kann die Fruchtqualität um diesen Parameter ergänzt werden. Dieser trägt zusätzlich zur Steigerung der Pflanzenresistenz bei, wodurch verschiedene Ertragsparameter positiv verändert werden können [54, 82, 124, 125]. Die Bildung von sekundären Pflanzeninhaltsstoffen ist nicht konstant. Darauf basierend wurden vor allem in den letzten Jahren zahlreiche Untersuchungen durchgeführt, um potentielle Einflussfaktoren auf den Sekundärmetabolismus zu prüfen. So sind Studien auf allen Stufen des „from-farm-to-fork“-Prinzips vorzufinden, die sich mit der Manipulation und vor allem Akkumulation von sekundären Pflanzeninhaltsstoffen beschäftigen [54, 124, 126, 127].

Als wichtigste Beispiele sind in diesem Zusammenhang nennen:

- Auswahl des genetischen Hintergrunds unter Berücksichtigung von Züchtung und biotechnologischen Faktoren [41, 45, 46, 52, 73, 84, 91, 108, 128-133],
- Einfluss des Anbaustandortes einschließlich Klima und anderen Umwelteinflüssen [42, 53, 81, 134-142],
- Anwendung von Kulturmaßnahmen [65, 77, 79, 86, 87, 132, 133, 143-170]
- Optimierungen von Nacherntebedingungen wie Lagerung, Begasung oder Bestrahlung [80, 86, 165, 171-183] und
- Technologien in der Lebensmittelverarbeitung und –zubereitung [43, 78, 184-202].

Da im Rahmen dieser Arbeit vor allem die an zweiter und dritter Stelle genannten Einflussfaktoren untersucht wurden, werden diese im Folgenden detaillierter vorgestellt. Die wichtigsten Einflussfaktoren, die bei Erdbeeren in diesem Zusammenhang untersucht wurden, sind in der Übersichtstabelle 2.2 dargestellt.

Tab. 2.2:
Ausgewählte externe Einflussfaktoren während des Anbaus auf sekundäre Fruchtinhaltsstoffe der Erdbeere.

Einflussfaktor	Wirkung	Quelle
Umgebungstemperatur	→ Eine höhere Umgebungstemperatur führt zur verstärkten Bildung von phenolischen Inhaltsstoffen und Verminderung des Ascorbinsäuregehaltes	[147, 166]
Kohlenstoffdioxid	→ Erhöhung der Kohlenstoffdioxidkonzentration in der Luft, führt zum Anstieg der antioxidativen Kapazität und der Gehalte an Flavonolen, Anthocyanen, <i>p</i> -Cumaroyl-Glucose und Ascorbinsäure in den Früchten	[142]
Licht	→ Eine Beschattung hat keinen Effekt auf die untersuchten Gesamtphenole, Ellagsäure und antioxidative Kapazität, lediglich Anthocyane wurden in geringerem Ausmaß gebildet	[77]
	→ Untersuchung von UV-Effekt durch Anbau unter Folie: kein bzw. nur leicht positiver Einfluss (14 %) auf Gesamtphenole bzw. antioxidative Kapazität; Synthese von Quercetin-3-glucuronid und Cyanidin-3- <i>O</i> -glucosid stark UV-B-abhängig, aktuellste Studie zeigt Einfluss auf alle Anthocyane (+ 24 %)	[163, 203, 204]
Trockenstress	→ Erhöhung der antioxidativen Kapazität (Gesamtphenole, FRAP) mit der geringsten Wasserdosis pro Tag; kein bis geringer Einfluss auf Anthocyane und Vitamin C	[134]
Nährstoffversorgung	→ Die Veränderung der Gesamtnährstoffzufuhr zeigten unterschiedliche Ergebnisse mit sowohl keinen als auch positiven und negativen Effekten	[77, 144, 150]
Salzstress	→ Je nach Sorte und Empfindlichkeit ist der Effekt von Salzstress auf den Sekundärmetabolismus von Erdbeeren positiv oder negativ; negativer Einfluss auf Vitamin C	[148, 205]
Bodenbedeckungsmaßnahmen	→ Verschiedene Anwendungsbereiche wie Vergleich von unterschiedlichen Mulchmaterialien, Vliesabdeckung oder Dammanbau mit überwiegend positivem Effekt auf bioaktive Inhaltsstoffe	[65, 66, 77, 87, 150, 169]
Ökologischer Anbau	→ Nicht eindeutig	[86, 206, 207]

2.4.1 Variationen aufgrund des genetischen Hintergrundes

Innerhalb einer Pflanzenspezies können starke Unterschiede des äußeren Erscheinungsbildes auftreten. So werden Erdbeeren in verschiedenen Formen von länglich bis herzförmig und Farbtönen von Weiß bis Dunkelrot gebildet. Wie in Kapitel 2.1 beschrieben, unterscheiden sich Erdbeersorten in der antioxidativen Kapazität und der Zusammensetzung phenolischer Substanzen [41, 64]. Darüber hinaus zeigte eine kanadische Studie, dass einmaltragende Sorten eine höhere antioxidative Kapazität besitzen als remontierende Sorten [208, 209]. Um hohe Erträge und eine verbesserte Fruchtqualität zu erreichen, stellt die Erhöhung der antioxidativen Inhaltsstoffe bei der künftigen Züchtung neuer Sorten ein wesentliches Ziel dar [45, 131]. Darüber hinaus sollen die Pflanzen robust und anpassungsfähig an neue klimatische und anbautechnische Bedingungen sein [10]. Um den Prozess der klassischen Züchtung zu beschleunigen, ist als wichtigstes Werkzeug die Genomforschung und ihre Kartierung zu nennen um verantwortliche Gene und Sequenzen zu

identifizieren und zu lokalisieren. So werden z. B. Quantitative Trait Loci (QTL) kartiert, die in ernährungsrelevanten Eigenschaften von Früchten involviert sind [10]. Zur Charakterisierung von Kandidatengen sind Expressionsanalysen notwendig, die mit Hilfe von Transkriptomanalysen, Microarrayanalysen, RT-PCR (Reverse Transkription Polymerase-Kettenreaktion), Sequenzierung oder RNA Interferenz untersucht werden. In der Metabolomforschung konnten auf dem Gebiet der Erdbeerbiosynthese neue Erkenntnisse erzielt werden [73, 97, 98, 107, 109, 210-212]. Bislang werden transgene Pflanzen jedoch kaum eingesetzt um die ernährungsrelevante Fruchtqualität zu verbessern [213]. Hinzukommt die fehlenden Verbraucherakzeptanz gentechnisch veränderter Lebensmittel. Darüber hinaus sind Langzeitwirkungen genetischer Modifikationen bei Beerenobst kaum bekannt [10]. Insgesamt ist sowohl bei der beschleunigten Züchtung als auch des Einsatzes gentechnologischer Verfahren ein hoher Forschungsbedarf vorhanden.

2.4.2 Beeinflussung der sekundären Inhaltsstoffe durch externe Faktoren während des Anbaus

Die Untersuchung von Einflussfaktoren auf bioaktive Pflanzeninhaltsstoffe während des Anbaus und Wachstums der Pflanze steht vor allem aufgrund von innovativen landwirtschaftlichen Techniken und des Klimawandels im Fokus. Dabei ist der letztgenannte Faktor mit einer Steigerung der Durchschnittstemperatur, einem Anstieg des CO₂-Gehaltes der Luft, dauerhaften oder wechselnden Trockenperioden und anderen Wetterextremen verbunden. Um auf diese Veränderungen reagieren und die Herstellung von pflanzlichen Erzeugnissen bei Bedarf anpassen zu können, ist es notwendig, die Reaktion von Pflanzen auf z. B. Temperatur, Tageslänge oder Niederschlag auf allen Stufen der Produktion und Kultivierung genau zu kennen [214-216].

2.4.3 Einfluss der Umgebungstemperatur

Im Review von Jaakola & Hohtola [53] werden Studien, die den Temperatureinfluss auf die Flavonoidbiosynthese untersuchten, einander gegenübergestellt. Vor allem zur Bildung von Anthocyanen gibt es unter diesem Aspekt zahlreiche Versuche wie beispielsweise an Äpfeln oder Weintrauben, bei denen nachgewiesen werden konnte, dass kühlere Bedingungen einen positiven Effekt auf die Farbgebung haben [140, 217]. Dieser Effekt wurde auch bei Untersuchungen an Heidelbeeren (*Vaccinium myrtillus*) verifiziert [138, 218, 219]. In Erdbeeren ist hingegen ein gegensätzliches Ergebnis beobachtet worden. Die Kultivierung von zwei Erdbeersorten ('Earliglow' und 'Kent') bei vier Umgebungstemperaturen (Tag/Nacht in °C: 18/12, 25/12, 25/22 und 30/22) ergab einen drastischen

Anstieg des Anthocyangehaltes von $317 \mu\text{g g}^{-1}$ Pelargonidin-3-glucosid bei der kühleren Umgebungstemperatur auf $864 \mu\text{g g}^{-1}$ unter den wärmeren Bedingungen [147]. Dieser Effekt wurde durch Temperaturversuche im Rahmen dieser Arbeit bestätigt [166]. Darüber hinaus konnte in der Studie von Wang et al. [147] auch eine erhöhte Bildung von *p*-Cumaroyl-Glucose und Flavonolen wie Quercetinen und Kämpferolen festgestellt werden. Die betreffenden Ergebnisse werden in Kapitel 4 detailliert vorgestellt und diskutiert. Darüber hinaus konnte auch bei anderen Beerenfrüchten festgestellt werden, dass sich niedrige Anbautemperaturen negativ auf deren Anthocyangehalte auswirken. So konnte in Himbeeren bei Erhöhung der Umgebungstemperatur ($12 \text{ }^\circ\text{C}$, $18 \text{ }^\circ\text{C}$ und $24 \text{ }^\circ\text{C}$) eine Steigerung der antioxidativen Kapazität und der Gesamtanthocyane bezogen auf das Frischgewicht beobachtet werden [161]. Hierbei ist zu berücksichtigen, dass der Gesamtanthocyangehalt mit 73 % hauptsächlich durch die Anthocyane Cyanidin-3-*O*-sophorosid und Cyanidin-3-*O*-glucosylrutinosid repräsentiert wird, wobei sich bei ansteigender Temperatur das Gleichgewicht zwischen beiden Anthocyanen zum letztgenannten verschiebt. Darüber hinaus führte die höhere Temperatur während der Reife zu einer Steigerung der Fruchtgehalte an Ellagttanninen wie Lambertianin C ($46 \mu\text{g g}^{-1}$ FG, $72 \mu\text{g g}^{-1}$ FG und $83 \mu\text{g g}^{-1}$ FG) und Sanguin H-6 ($144 \mu\text{g g}^{-1}$ FG, $159 \mu\text{g g}^{-1}$ FG und $163 \mu\text{g g}^{-1}$ FG) sowie an Ellagsäureglycosid ($6,3 \mu\text{g g}^{-1}$ FG, $10,6 \mu\text{g g}^{-1}$ FG und $18,6 \mu\text{g g}^{-1}$ FG). Bezogen auf das Trockengewicht der Früchte war der Temperatureffekt weniger stark ausgeprägt. Temperaturversuche an Moltebeeren (*Rubus chamaemorus*) zeigten keinen durchgängigen Trend bezüglich der Fruchtgehalte an Gesamtphenolen und Gesamtanthocyanen [220]; eine niedrigere Temperatur von $9 \text{ }^\circ\text{C}$ wirkte sich positiv auf die Gehalte der Ellagttannine und Flavonole im Vergleich zu höheren Umgebungstemperaturen ($12 \text{ }^\circ\text{C}$, $15 \text{ }^\circ\text{C}$ und $18 \text{ }^\circ\text{C}$) aus [133].

Ein positiver Einfluss von kühlen Wachstumsbedingungen auf den Gehalt von Ascorbinsäure konnte pflanzenübergreifend durch diverse Studien belegt werden [147, 161, 165, 166, 221, 222]. In der Studie von Remberg et al. [161] wurde dieser Effekt, bezogen sowohl auf das Frischgewicht als auch auf die Trockensubstanz, bewiesen.

2.4.3.1 CO_2 -Gehalt der Atmosphäre

Der Einfluss des Kohlenstoffdioxidgehaltes der Umgebungsluft während der Kultivierung wurde in einer Studie von Wang et al. [142] untersucht. Eine Anreicherung von CO_2 in zwei Stufen mit $300 \mu\text{mol mol}^{-1}$ und $600 \mu\text{mol mol}^{-1}$ führte zu einem leichten Anstieg von Ascorbinsäure um etwa 10 %. Darüber hinaus konnte die antioxidative Kapazität erhöht werden; pro g Trockengewicht wurde mittels ORAC-Test eine Erhöhung von $131,9 \mu\text{mol}$

Troloxäquivalenten (TE) (Umgebungs-CO₂) auf 181,9 µmol TE (Umgebungs-CO₂ + 600 µmol mol⁻¹) bestimmt. Einzelne phenolische Inhaltsstoffe wurden noch stärker beeinflusst: *p*-Cumaroyl-Glucose akkumulierte von 417 auf 735 µg g⁻¹ Trockensubstanz (TS), Quercetinglycoside von 27 auf 108 µg g⁻¹ TS, Kämpferol-3-*O*-glucosid von 52 auf 84 µg g⁻¹ TS, Pelargonidinglycoside von 2447 auf 4350 µg g⁻¹ TS, und Cyanidin-3-*O*-glucosid von 561 auf 1153 µg g⁻¹ TS. Was die Synthese von Kämpferol-3-*O*-glucuronid und Cyanidin-3-*O*-glucosidsuccinat betrifft, konnte kein CO₂-Einfluss beobachtet werden.

2.4.3.2 Einfluss von Licht und Tageslänge

Die Lichtqualität und -intensität hängt von verschiedenen Faktoren wie Dauer, Einfallswinkel der Sonnenstrahlung oder des Lichtspektrums ab [53]. Studien an Nektarinen zeigten positive Lichteffekte auf die Akkumulation von phenolischen Inhaltsstoffen [159, 223]. Weiterhin wurde die Anthocyanbildung in der Schale von Äpfeln durch die Zufuhr von Licht ausgelöst [54, 145, 146]. Untersuchungen an Tafeltrauben zeigten ähnliche Ergebnisse. So wurden bei geringer Lichtintensität weniger Gesamtphenole und Anthocyane gebildet [224, 225]. Durch Beschattung mit 32 % weniger Licht wurden im Vergleich zu einer Kontrolle die Gehalte an Gesamtphenolen und Ellagsäure sowie die antioxidative Kapazität (DPPH) in Erdbeeren nicht beeinflusst [77]. Die Anthocyane wurden bei dieser Untersuchung um etwa 10 % weniger gebildet. Was den Einfluss des Lichts anbelangt, wurde die UV-Strahlung mit ihrer Wirkung auf den Sekundärstoffwechsel am häufigsten untersucht [50, 151, 203, 204, 226-228]. Dieser Einflussfaktor wird im Zusammenhang mit dem Anbau von Erdbeeren in Folienhäusern in Kapitel 2.4.3.6.2 und 9 detaillierter vorgestellt werden.

2.4.3.3 Einfluss des Anbaustandortes

Temperatur, CO₂ und Licht sind die wesentlichen klimatischen Größen, wodurch sich verschiedene Anbauregionen unterscheiden. Studien, in denen der Einfluss des Breitengrades durch die Auswahl von verschiedenen Anbauorten untersucht wurde, wurden bisher allerdings nur begrenzt durchgeführt [138]. Da für die Sortenwahl die Klimaregion ausschlaggebend ist, ist bei diesen Studien zu berücksichtigen, dass teilweise nicht dieselben Genotypen miteinander verglichen wurden. So untersuchten Reyes-Carmona et al. [139] verschiedene Inhaltsstoffe und die antioxidative Kapazität in Brombeeren, die an unterschiedlichen Standorten in Oregon, USA und in Michoacan, Mexiko angebaut wurden, mit dem Ergebnis dass der Genotyp bioaktive Inhaltsstoffe stärker beeinflusst als der Anbaustand-

ort. Dabei wurden an den Standorten in den USA und in Mexiko nicht dieselben Sorten verwendet. Variationen von Anthocyanen und Flavonolen in *Vaccinium*-Arten (*Vaccinium myrtillus* und *Vaccinium uliginosum*) wurden von Lätti et al. [229, 230] in zwei Studien an verschiedenen Standorten Finnlands untersucht. In beiden Studien konnten in den nördlicheren Regionen höhere Anthocyangehalte der Früchte beobachtet werden. Darüber hinaus konnte die jüngere Studie von Lätti et al. [230] einen positiven Einfluss auf Flavonole mit Zunahme des Breitengrades feststellen. Åkerström et al. [138] zeigten ebenfalls anhand von Untersuchungen der Anthocyangehalte in Heidelbeeren (*Vaccinium myrtillus*), dass dieser Effekt primär auf den Genotyp zurückzuführen ist und nicht auf den Anbaustandort bzw. den Breitengrad. Dies wurde durch die Kultivierung von Wildpopulationen verschiedener Herkunft an einem Standort belegt. Die Gehalte phenolischer Substanzen in Erdbeeren derselben Sorte wurden an zwei Standorten in Italien (Cesena: 44°09'N, Meta-ponto: 40°23'N) während der Reifung miteinander verglichen [73]. Es konnte gezeigt werden, dass Früchte des nördlichen Standortes signifikant höhere Flavonolgehalte, ein stärker ausgeprägtes Epicatechin:Catechin-Verhältnis und einen höheren Polymerisierungsgrad der Proanthocyanidine aufwiesen. Während sich die Unterschiede des Epicatechin:Catechin-Verhältnisses über die gesamte Reifeentwicklung erstreckten, waren die Unterschiede im Flavonolgehalt vor allem im letzten Stadium von Grün zu Rot zu beobachten und die des Polymerisierungsgrades der Proanthocyanidine im frühen grünen Stadium.

Neben Auswirkungen des Breitengrades wurde auch der Einfluss von Höhenunterschieden untersucht. So konnte in Weintrauben zwar eine Steigerung von Anthocyanen mit steigender Höhe (250 m bis 300 m bzw. 300 m bis 350 m) festgestellt werden, doch waren die Gehalte an Proanthocyanidinen in denjenigen Früchten erhöht, die in geringerer Höhe (100 m bis 150 m) angebaut wurden [231, 232]. Eine Schweizer Studie zeigte, dass Erdbeeren, die auf 1050 m angebaut wurden, keine signifikanten Unterschiede im Gesamtanthocyangehalt aufwiesen, aber eine niedrigere antioxidative Kapazität (TEAC: 9,2 $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ FG) und einen reduzierten Vitamin C-Gehalt (0,7 mg g^{-1} FG) gegenüber Früchten, die in einer Höhe von 480 m (TEAC: 11,0 $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ FG, Vitamin C: 0,7 mg g^{-1} FG) produziert wurden [233]. Bei den ermittelten Unterschieden handelte es sich vermutlich lediglich um einen Verdünnungseffekt, da bezogen auf das Trockengewicht keine signifikanten Unterschiede erkennbar waren. Dieser Effekt wird auf einen erhöhten Niederschlag in der Region Bruson (1050 m) zurückgeführt.

2.4.3.4 Trockenstress

Der Einfluss von Trockenstress auf die Fruchtqualität von Erdbeeren ('Elsanta') wurde von Terry et al. [134] mittels drei Behandlungen (50 mL, 100 mL und 200 mL Wasser pro Tag) untersucht. Die höchste Bewässerungsstufe sollte eine optimale Wasserversorgung darstellen. Primäre und sekundäre Früchte wurden getrennt voneinander analysiert. Bezogen auf die Trockensubstanz konnte ein negativer Einfluss auf den Ascorbinsäuregehalt durch die geringste Wasserapplikation ($6,24 \text{ mg g}^{-1}$) im Vergleich zur höchsten ($7,66 \text{ mg g}^{-1}$) festgestellt werden. Der Gehalt der Anthocyane wurde weder bezogen auf das Frischgewicht noch auf die Trockensubstanz deutlich beeinflusst. Ein positiver Effekt des Wasserdefizits war hinsichtlich der antioxidativen Kapazität der Früchte zu beobachten. So wurde bei der Behandlung mit 50 mL Wasser pro Tag, bezogen auf das Frischgewicht ein Wert von $10,3 \text{ mM Fe}^{2+} \text{ g}^{-1}$ (FRAP) bzw. $3,4 \text{ mg GAE g}^{-1}$ (Gesamtphenole) ermittelt und bei 200 mL Wasser pro Tag ein Wert von $8,0 \text{ mM Fe}^{2+} \text{ g}^{-1}$ bzw. $2,1 \text{ mg GAE g}^{-1}$. Für den Parameter Gesamtphenole wurde dieser Effekt auch auf die Trockensubstanz bezogen bestätigt. Atkinson et al. [124] erwähnen in einem Review über Einflussfaktoren auf bioaktive Substanzen in Erdbeeren die Auswirkung von Trockenstress auf den Ellagsäuregehalt. Ein früher Trockenstress war im Vergleich zur Kontrolle kaum festzustellen, während ein später Trockenstress im Mittel zu einer Verdopplung des Ellagsäuregehaltes führte.

2.4.3.5 Einfluss der Nährstoffzufuhr und Salzstress

Um einen hohen Ertrag und eine gute Fruchtqualität zu gewährleisten, ist es wichtig die Pflanze optimal mit Nährstoffen zu versorgen. Darüber hinaus fungieren Mineralstoffe als Kofaktoren des Phenolstoffwechsels, wodurch eine Beziehung zwischen Nährstoffversorgung und sekundären Inhaltsstoffen hergestellt werden kann. Der Einfluss der Pflanzenversorgung auf den Phenolstoffwechsel von Kulturpflanzen wurde in einem Review von Treutter [54] zusammengefasst. Die Wirkung auf phenolische Inhaltsstoffe in Erdbeeren durch drei verschiedenen Düngungsbehandlungen (ohne Nährstofflösung, verdünnter Nährstofflösung (1:2) und unverdünnter Nährstofflösung) im Zusammenhang mit dem Einsatz von Kompost wurde von Wang et al. [144] untersucht. In dieser Studie konnte an zwei Erdbeersorten ('Honeoye', 'Allstar') gezeigt werden, dass durch eine erhöhte Nährstoffzufuhr die Gehalte aller untersuchten phenolischen Inhaltsstoffe und der Ascorbinsäure in den Früchten gesteigert wurden. Der Einfluss auf den Ascorbinsäuregehalt war in diesem Zusammenhang zwar signifikant, doch nur in einem geringfügigen Ausmaß zu beobachten. So wurde ohne Düngung durchschnittlich ein Gehalt von $3,2 \text{ } \mu\text{mol g}^{-1}$ und mit

Düngung ein Gehalt von über $3,3 \mu\text{mol g}^{-1}$ (verdünnte Nährlösung) bzw. $3,5 \mu\text{mol g}^{-1}$ (unverdünnte Nährlösung) ermittelt. Die antioxidative Kapazität und die Gehalte an phenolischen Inhaltsstoffen wie *p*-Cumaroyl-Glucose, Anthocyanen, Ellagsäure und Kämpferolglycosiden stiegen mit stärkerer Düngung an. Der Unterschied im Vergleich zur Kontrolle betrug mindestens 10 % bis hin zur Verdopplung der Gehalte von Cyanidin-3-*O*-glucosid bzw. Ellagsäure. Die ermittelten Resultate widersprechen allerdings den Ergebnissen der Studie von Anttonen et al. [77]. Dort wurde an der Erdbeersorte 'Bounty' gezeigt, dass ein Anstieg der elektrischen Leitfähigkeit (EC-Wert: 0,6; 1,2; 2,4 mS cm⁻¹) zu geringeren Gehalten an Quercetin, Kämpferol und Ellagsäure in Erdbeeren führte. Hierbei ist jedoch zu berücksichtigen, dass die Wirkung der mittleren und stärksten Düngungsstufe nicht signifikant voneinander abwich. Eine Studie von Hargreaves et al. [234] zeigte, dass eine konventionelle und organische Nährstoffgabe auf die Höhe der antioxidativen Kapazität von Erdbeerfrüchten der Sorte 'Sable' keinen Einfluss hat. Ein negativer Einfluss von Düngung auf die Bildung von Anthocyanen in Früchten der Erdbeersorte 'Bounty' wurde in einer Studie von Moor et al. [150] festgestellt. Was den Vitamin C-Gehalt angeht, konnte in diesen Untersuchungen hingegen kein durchgängiger Trend beobachtet werden.

Im Allgemeinen sind Erdbeeren gegenüber Natriumchlorid empfindlich, doch existieren diesbezüglich Sortenunterschiede [135, 148, 205, 235-237]. In Verbindung mit bioaktiven Inhaltsstoffen, konnte gezeigt werden, dass bei der weniger sensiblen Sorte 'Korona' durch die Gabe einer mit Natriumchlorid angereicherten Nährlösung (40 und 80 mmol NaCl L⁻¹) die Gehalte an Anthocyanen und Gesamtphenolen in den Früchten im Vergleich zur Kontrolle anstiegen [205]. Früchte der NaCl-sensiblen Sorte 'Elsanta' hingegen zeigten bei der gleichen Behandlung keine Unterschiede im Gesamtphenolgehalt, während ein negativer Einfluss auf den Gehalt an Anthocyanen zu verzeichnen war. Der Gehalt an Vitamin C in den Früchten wurde durch die Salzzufuhr bei beiden Sorten gegenüber der Kontrolle reduziert, was am stärksten bei der Sorte 'Elsanta' ausgeprägt war. Alle Ergebnisse bezogen sich auf das Frischgewicht der Früchte. Das durchschnittliche Fruchtgewicht wurde durch die Applikation von NaCl negativ beeinflusst [148]. Eine zusätzliche Auswertung bezogen auf die Trockensubstanz wäre aus diesem Grund interessant.

2.4.3.6 Anwendung verschiedener Kulturmaßnahmen bei Erdbeeren

Eines der Hauptziele bei der Produktion von Erdbeeren ist neben der Erzielung hoher Erträge die Steuerung der Ernte, die zum einen über die Auswahl der Sorte und zum anderen über die Anbauweise erreicht werden kann. Dabei gibt es verschiedene Möglichkeiten, Erdbeeren zu kultivieren [238]. Neben dem konventionellen Anbau im gewachsenen Boden existieren weit verbreitete Methoden wie z. B. Bodenbedeckungsstrategien und die Anwendung von Dämmen [39, 239]. Hierzu werden Ergebnisse im Zusammenhang mit sekundären Pflanzeninhaltsstoffen in Kapitel 8 vorgestellt und der Stand der Wissenschaft diesbezüglich im nächsten Abschnitt zusammengefasst. Vor allem für die „Out-of-Season“-Produktion spielt der geschützte Anbau eine wesentliche Rolle [238, 240]. In diesem Zusammenhang hat sich der Anbau in Plastiktunneln in vielen Teilen Europas durchgesetzt [238]. Diese Kultivierungsweise wird häufig mit der Verwendung von Substraten kombiniert um eine Bodendesinfektion zu umgehen [55, 241]. Zudem finden auch ökologische Verfahren bei der Produktion von Erdbeeren Anwendung [242].

2.4.3.6.1 Anwendung von Bodenbedeckungsmaßnahmen

Eine gängige Methode, Erdbeeren zu kultivieren, ist der Anbau mit Hilfe von Bodenbedeckungsmaterialien wie beispielsweise Mulchfolie (vgl. Kapitel 8.1). Durch den Anbau auf Dämmen unter Verwendung von schwarzer Mulchfolie wird die Bodentemperatur erhöht, was zu einem unterschiedlichen Wachstums- und Fruchtungsverhalten der Pflanzen führt [39, 145, 146]. Hierzu wurde eine Reihe von Studien bezüglich sekundärer Pflanzeninhaltsstoffen durchgeführt. So untersuchten Atkinson et al. [87] Erdbeeren der Sorte 'Elsanta' und 'Flamenco' in Säcken unter Verwendung von vier verschiedenen Mulchtypen (braune Hessian-Folie, schwarze Polyethylenfolie, weiße reflektierende Mulchfolie [Extenday] und ultra-reflektierende Folie). Ein Einfluss auf die Ellagsäure war nur bei Früchten der Sorte 'Flamenco' zu beobachten. So konnte der Gehalt um bis zu 40 % (Extenday-Folie im Vergleich zur Hessian-Folie) gesteigert werden. Der Vitamin C-Gehalt hingegen wurden nur in Früchten der Sorte 'Elsanta' signifikant beeinflusst, der durch den Einsatz von reflektierender Folie (Extenday und ultra-reflektierend) um mehr als 10 % gesteigert werden konnte. Anttonen et al. [77] verglichen den Einfluss von weißer und brauner Mulchfolie (Dammanbau) auf die Bildung von sekundären Inhaltsstoffen in Erdbeeren der Sorte 'Korona'. Hierbei wurde die antioxidative Kapazität (DPPH) nicht signifikant beeinflusst, während die Gehalte an Gesamtphenolen (Folin-Ciocalteu) und Ellagsäure bei Früchten der weißen Mulchvariante erhöht waren. Die braune Mulchfolie konnte im Gegenzug die Anthocyangehalte in den Früchten steigern. Während die erwähnten Studien

sich mit dem Vergleich von unterschiedlichen Folientypen befassten, konnten Moor et al. [150] in einem Zweijahresversuch nachweisen, dass der Gehalt an Anthocyanen in Erdbeerfrüchten, die unter Verwendung von schwarzem Mulchmaterial erzeugt wurden, höher war als in jenen, die konventionell (mit Stroheinlage) kultiviert wurden. Die Wahl der Anbaumethoden zeigte keinen durchgängigen Effekt auf den Ascorbinsäuregehalt in den Früchten. Ferner untersuchten Wang et al. bioaktive Inhaltsstoffe der Erdbeere unter dem Einfluss des ebenerdigen Anbau im Vergleich zur Kultivierung auf schwarzer Mulchfolie [65, 66]. In der zuerst publizierten Studie wurde die Mulchfolie auf Dämmen angewandt [66]. Früchte, die bei dieser Variante produziert wurden, enthielten höhere Gehalte an Vitamin C (+ ~10 %), Ellagsäure (+ ~20 %), *p*-Cumaroyl-Glucose (+ ~50 %), Quercetinglycosiden (+ ~20 %) und Anthocyanen (+ ~20 %) und wiesen eine höhere antioxidative Kapazität (ORAC, + ~15 %) auf. Der Gehalt an Kämpferolglycosiden hingegen wurde nicht beeinflusst. In der jüngeren Studie wurde der konventionelle Anbau mit dem Einsatz von Mulchfolie im ebenerdigen Anbau verglichen und der Effekt einer neuen Anbauvariante „compost socks“ analysiert. Bei dieser Methode wird Kompost in schlauchartige und feinmaschige Netze abgefüllt, auf denen die Pflanzen kultiviert werden [243]. Diese Anbauvariante eignet sich als effektive Alternative zur nicht mehr erlaubten Bodenentseuchung mit Methylbromid. Die Gehalte an Gesamtphenolen (Folin-Ciocalteu) und die antioxidative Kapazität (ORAC) der Früchte wurde durch sie signifikant beeinflusst. Für diese beiden Parameter ließen sich folgende Abstufungen treffen: ebenerdiger Anbau < schwarze Mulchfolie < „compost socks“ (33,0 < 36,3 < 41,6 ORAC in $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ bzw. 1268 < 1343 < 1590 Gesamtphenole in $\mu\text{g GAE g}^{-1}$). Weiterhin konnten sowohl der Gehalt der Gesamtanthocyane als auch die einzeln bestimmten Anthocyane durch den Einsatz von schwarzer Mulchfolie (525 $\mu\text{g Gesamtanthocyane g}^{-1}$ FG) und „compost socks“ (559 $\mu\text{g Gesamtanthocyane g}^{-1}$ FG) gegenüber der Standardanbauweise (429 $\mu\text{g Gesamtanthocyane g}^{-1}$ FG) gesteigert werden. Die farblosen phenolischen Inhaltsstoffe der Früchte wurden durch die schwarze Mulchfolie weniger stark beeinflusst. Deswegen konnte in erster Linie nur bei der ebenerdigen Variante und der Variante „compost socks“ eine signifikante Steigerung von Ellagsäure und Ellagsäureglucosid (36,5 und 45,6 $\mu\text{g g}^{-1}$), *p*-Cumaroyl-Glucose (31,2 und 38,9 $\mu\text{g g}^{-1}$), Quercetinglycosiden (11,5 und 14,4 $\mu\text{g g}^{-1}$) und Kämpferolglycosiden (4,7 und 5,8 $\mu\text{g g}^{-1}$) beobachtet werden, die durch die letztgenannte Methode ausgelöst wurde. In einer kürzlich publizierten Studie von Fan et al. [169] wurde auch der Einfluss des ebenerdigen Anbaus mit dem Einsatz von Plastikfolie und zusätzlich der Effekt der Vliesabdeckung auf die Bildung von bioaktiven Inhaltsstoffen in Erdbeeren untersucht. Bei der Anwendung von Mulchfolie (Farbe nicht angegeben) wurde nur ein gering-

fügiger Effekt beobachtet. Dagegen wurde der Gehalt aller analysierten phenolischen Inhaltsstoffe der Früchte, wie Ellagsäure, Flavonole, Hydroxyzimtsäuren und Anthocyane mit der Ausnahme von Kämpferolen durch den zusätzlichen Einsatz einer weißen Reihenabdeckung (bis zum grünen Fruchtstadium) gesteigert.

2.4.3.6.2 Anbau in Folienhäusern

Um die Anbausaison auszuweiten, werden Erdbeeren in vielen Teilen Europas einschließlich Deutschland im Folientunnel kultiviert [240]. Auf dem Gebiet des Folienanbaus von Erdbeeren gibt es, was sekundäre Inhaltsstoffe betrifft, bislang nur wenige Studien [163, 203, 204]. Was dieses Thema anbelangt, untersuchte Ordidge et al. [203] in einer Zweijahres-Studie den Einfluss von drei Folienmaterialien (1. UV-Block-Film: Durchlässigkeit im UV-B-Bereich 1 % bis 6 % und UV-A 1 % bis 4 %; 2. UV-Low-Film: Durchlässigkeit im UV-B-Bereich 13 % bis 26 % und UV-A 22 % bis 77 %; 3. UV-Window-Film mit einer Durchlässigkeit von 60 % bis 78 % in einem Wellenlängenbereich von 260 nm bis 400 nm) auf wertgebende Inhaltsstoffe der Erdbeersorten 'Elsanta' und 'Everest' an verschiedenen Ernteterminen. Im Mittel unterschieden sich Früchte der Variante UV-Low und UV-Window nicht. Allerdings waren im Vergleich zur Variante UV-Block die Gehalte an Gesamtphenolen um etwa 12 % erhöht, die Gesamtanthocyane um ca. 6 % und die Phenolsäuren um etwa 19 %. Dieser Trend war nicht an jedem untersuchten Termin signifikant. Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit [163] bestätigten, dass durch verschiedene Folienmaterialien nur ein geringfügiger Einfluss besteht (vgl. Kapitel 9). Dennoch konnte für einzelne phenolische Verbindungen wie Quercetin-3-glucuronid und Cyanidin-3-glucosid eine starke UV-B Abhängigkeit gezeigt werden [163]. In diesem Zusammenhang ergab eine jüngere Studie ebenfalls beim Anbau von Erdbeeren, dass sich UV-transparente (81 % UV-Durchlässigkeit im Bereich 280 nm bis 400 nm) von UV-undurchlässige (3,5 % UV-Durchlässigkeit im Bereich 280 nm bis 400 nm) Folie deutlich unterschied [204]. Die Früchte wurden getrennt nach der Fruchtordnung in primär, sekundär und tertiär untersucht. Für die Gesamtphenole wurden vergleichbare Ergebnisse erzielt, wobei durch den Einsatz von UV-durchlässiger Folie der Gehalt im Mittel um etwa 14 % gesteigert werden konnte. Die Flavonoidgehalte der Früchte wurden in einem ähnlichen Ausmaß beeinflusst. Dabei wurden die Anthocyanengehalte durch die UV-durchlässige Folie durchschnittlich um 21 % gesteigert.

2.4.3.6.3 Ökologischer Anbau

Die nachhaltige Nutzung der Ressourcen und der Verzicht auf chemisch-synthetischen Pestizideinsatz sind die wesentlichen Merkmale des ökologischen Landbaus in der EU und in Deutschland [244]. Aufgrund eines stärkeren Ernährungsbewusstseins gewannen Bio-produkte in den letzten Jahren immer mehr an Bedeutung [245]. Im Zusammenhang mit sekundären Inhaltsstoffen untersuchte Meltsch et al. [206] an der Sorte 'Elsanta' den Einfluss des ökologischen Anbaus. Neben Vorteilen in sensorischen Attributen zeigten die ökologisch angebauten Früchte höhere Gesamtphenolgehalte im Vergleich zu konventionell hergestellten Früchten. Jedoch konnten in dieser Studie keine Unterschiede in den Gesamtanthocyan- und Phenolcarbonsäuregehalten ermittelt werden. In einer weiteren Studie wurden konventionell und ökologisch erzeugte Erdbeerextrakte zur Inhibierung von Krebszellenproliferation eingesetzt [207]. Dabei wurden Extrakte der Erdbeersorten 'Cavendish' und 'Honeoye' miteinander verglichen. Der Gehalt an Vitamin C war in den biologisch hergestellten Früchten der Sorte 'Honeoye' höher, während sich die Anbauweise bei der Sorte 'Cavendish' diesbezüglich nicht auswirkte. Ökologisch produziert Früchte der Sorte 'Cavendish' zeigten höhere Gesamtphenolgehalte im Vergleich zu konventionellen Früchten. Im Gegensatz dazu wurden bei 'Honeoye' höhere Gesamtphenolwerte in der konventionellen Variante analysiert. Darüber hinaus wurden bei den biologisch erzeugten Erdbeeren der Sorte 'Cavendish' höhere Gehalte an Ellagsäure, Hydroxyzimtsäuren, Gesamtanthocyanen einschließlich Pelargonidinen und Cyanidinen im Vergleich zur konventionellen Methode ermittelt. Demgegenüber unterschieden sich die biologischen Früchte der Sorte 'Honeoye' in ihrem Gehalt an Hydroxyzimtsäuren von dem konventioneller Früchter. Ein weiterer Vergleich wurde an den Sorten 'Diamante', 'Lanai' und 'San Juan' durchgeführt [85]. Dabei zeigten biologisch angebaute Erdbeeren eine signifikant höhere antioxidative Kapazität (TEAC), erhöhte Ascorbinsäuregehalte und Gesamtphenole von durchschnittlich 10 %. Einzelne phenolische Inhaltsstoffe wurden jedoch ohne eindeutigen Trend beeinflusst. Jin et al. [86] wiesen anhand der Erdbeersorten 'Earliglow' und 'Allstar' nach, dass die Gehalte der antioxidativ involvierten Enzyme, Gesamtphenole, Gesamtanthocyane und einzeln mittels HPLC bestimmten phenolischen Inhaltsstoffe in der biologischen Variante höher lagen als in den konventionell angebauten Erdbeeren.

2.4.3.6.4 Weitere Maßnahmen im Rahmen der Kultivierung von Erdbeeren

Neben den zuvor erwähnten Anbaumaßnahmen können weitere Parameter bei der Kultivierung von Erdbeeren variiert werden. So untersuchten Anttonen et al. [77] den Einfluss des Pflanztermins in Abstand von drei Wochen in Abhängigkeit von der Fruchtordnung auf die sekundären Erdbeerinhaltsstoffe der Sorte 'Korona'. Es konnte gezeigt werden, dass die Stellung der Früchte (vgl. Abb. 2.3) ausschlaggebend für die Gehalte von Gesamtphenolen (Folin-Ciocalteu), Anthocyanen und Ellagsäure sowie die antioxidativen Kapazität ist, wobei die tertiären Früchte im Allgemeinen höhere Gehalte aufwiesen als die primären Früchte. Es ist jedoch zu berücksichtigen, dass die Früchte klassifiziert nach Fruchtordnung je Pflanzdatum an unterschiedlichen Erntezeitpunkten geerntet wurden. Ein Einfluss des Pflanzdatums konnte unter diesen Bedingungen nicht evaluiert werden.

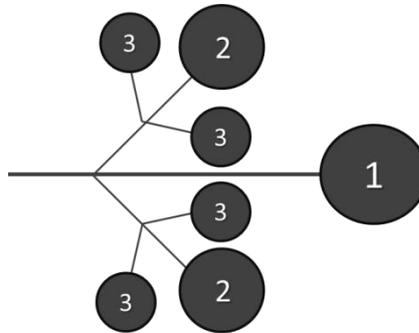


Abb. 2.3: Schematische Darstellung der Fruchtstellung bei Erdbeeren.
1 = primäre Früchte, 2 = sekundäre Früchte, 3 = tertiäre Früchte.

Atkinson et al. [87] untersuchten bei den Sorten 'Elsanta' und 'Florence' den Einfluss von Blütenausdünnung auf den Gehalt von Ellagsäure (nach Hydrolyse) in Abhängigkeit von der Fruchtordnung (Abb. 2.3). Die vier Ausdünnungsvarianten (1 = keine Ausdünnung, Entfernung von 2 = primären Blüten, 3 = primären und sekundären Blüten, 4 = sekundären und tertiären Blüten) zeigten keinen Einfluss auf den Gehalt an Ellagsäure.

Wang et al. [143] zeigten, dass der Gehalt von Resveratrol in Erdbeeren nach Applikation mit Methyljasmonat, einem an Wachstum und Abwehrreaktionen beteiligten Phytohormon, gesteigert werden konnte. Damit wurden vorangegangene *in vitro* Untersuchungen im Zusammenhang mit Methyljasmonat und der Akkumulation von Anthocyanen in Erdbeeren bestätigt [246].

2.5 Analyse von phenolischen Inhaltsstoffen

Aufgrund der großen Vielfalt von phenolischen Substanzen im pflanzlichen Probenmaterial, werden je nach Matrix und Fragestellung unterschiedliche Untersuchungsverfahren angewandt [247-250]. Dabei muss die Polarität und Löslichkeit der vorkommenden Zielsubstanzen – sowie Größe und Polymerisationsgrad, Glycosidierung und Position der Zucker – bei der Extraktion, den Aufreinigungsschritten sowie Quantifizierungs- und Identifizierungsmethoden berücksichtigt werden [247, 248, 250, 251]. Allgemein erfolgt nach einer geeigneten Probenvorbereitung eine Flüssigextraktion mit Hilfe eines Lösemittels. Bei Bedarf folgt als nächster Schritt eine Aufreinigung oder Aufkonzentrierung. Der so erhaltene Extrakt kann für kolorimetrische oder chromatographische Verfahren eingesetzt werden [248, 250, 251]. Im nächsten Abschnitt werden die wichtigsten Methoden für phenolische Substanzen in Früchten vorgestellt.

2.5.1 Probematerial und Extraktion

Nach einer repräsentativen Probenahme gibt es verschiedene Möglichkeiten, das Probematerial für eine weitere Analyse auf sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe vorzubereiten. Ältere Studien untersuchten die Substanzen im Saft der Früchte [66, 147, 187]. Hierbei ist zu berücksichtigen, dass der Saft weniger antioxidativ wirksame Substanzen wie Gesamtphenole und Anthocyane aber auch weniger Vitamin C enthält als das Ausgangsprodukt [78, 190]. Eine weitere Möglichkeit der Probenvorbereitung ist das Gefriertrocknen. Für Erdbeeren konnte gezeigt werden, dass bei diesem Prozess Verluste der Gesamtphenole und Ascorbinsäure von z. T. über 40 % zu beobachten sind [79]. Allerdings wurde dieses Ergebnis durch Böhm et al. [252] nicht bestätigt, denn in deren Studie zeigte sich bei der Bestimmung der antioxidativen Kapazität (FRAP und TEAC-Test) zwischen frischen Erdbeeren und gefriergetrocknetem Material keine signifikanten Unterschiede. Seeram et al. [253] verglichen bei der Identifizierung von phenolischen Inhaltsstoffen der Erdbeere die HPLC-Profile methanolischer Extrakte, die aus gefriergetrocknetem Material und frischen Früchten gewonnen wurden. Es konnten Unterschiede in der Intensität einzelner Peaks zwischen beiden Ausgangsubstanzen beobachtet werden. Die Autoren untersuchten darüber hinaus den Einfluss des Extraktionsmittels. Darauf basierend konnten im HPLC-Profil keine wesentlichen Unterschiede zwischen Methanol und Aceton festgestellt werden. Bei einem Vergleich von methanol- bzw. acetonhaltigen Extraktionsmittel in Kombination mit unterschiedlichen Säuren zeigte eine jüngere Studie für Erdbeeren, dass der Einsatz von Aceton Vorteile bringt, besonders was die Extraktionsausbeute von Ellagsäurekonjugaten und Flavan-3-olen betrifft [254]. Bei dieser Untersuchung ist zu berücksichtigen, dass nur eine

Extraktion durchgeführt wurde. Dagegen zeigte eine Extraktionsstudie, in der eine zweifache Extraktion von Himbeeren, Äpfeln, Blaubeeren und Preiselbeeren durchgeführt wurde, geringere Unterschiede beim Vergleich von 70 % Methanol und 60 % Aceton. Extraktionsversuche von Schwarzen Johannisbeeren und die Analyse von deren Gesamtanthocyanen, Gesamtphenolen bzw. antioxidativen Kapazität (TEAC, FRAP) zeigten Vorteile von Methanol im Vergleich zu Aceton [255]. Aceton oder Aceton/Wasser/Säure-Lösungen wurden bei zahlreichen Studien an Erdbeeren verwendet [41, 64, 65, 169, 256]. Ebenso fand Methanol teilweise in Kombination mit Wasser und Säuren häufig Anwendung bei der Extraktion von phenolischen Komponenten in Erdbeerfrüchten [73, 91, 173, 203, 205, 257]. Beschrieben wird auch die Verwendung beider Lösemittel für verschiedene Substanzgruppen [69, 96]. Zudem werden auch andere Lösemittel wie Ethanol [81, 258] oder Ethylacetat erwähnt [61]. Neben der Flüssig-Extraktion gibt es weitere Möglichkeiten der Extraktion bzw. deren Unterstützung. Dazu zählen die Fest-Flüssig-Extraktion, die Verwendung von superkritischem Wasser, Mikrowellen oder Ultraschall [259]. Je nach Fragestellung werden die Extrakte aufgereinigt oder aufkonzentriert. Die Festphasenextraktion wird genutzt, um Matrixeffekte durch störende Fruchtinhaltsstoffe wie Säuren und Zucker zu entfernen. Dazu wird an C18-Säulen [64, 72] bzw. an einer Säulen, die mit Amberlite XAD-7 gepackt ist, aufgereinigt [129, 260-262]. Das Verfahren eignet sich zudem für die Abtrennung bestimmter Substanzgruppen wie beispielsweise den Ellagantanninen mittels Sephadex LH-20 [72, 120, 263].

2.5.2 Bestimmung der antioxidativen Kapazität

Für die Analyse von phenolischen Inhaltsstoffen aber auch anderen sekundäre Pflanzeninhaltsstoffen wie Vitaminen (z. B. Tocopherole, Ascorbinsäure) oder Carotinoiden werden deren antioxidative Eigenschaften genutzt, um diese Inhaltsstoffe summarisch zu erfassen. Weit verbreitet sind aus diesem Grund unterschiedliche antioxidative Testsysteme [264-266]. Dabei unterscheiden sich die Methoden hinsichtlich ihres chemischen Grundprinzips, die im Allgemeinen entweder auf einem Wasserstoffatomtransfer (HAT, Hydrogen Atom Transfer) oder einem Elektronentransfer (ET, Electron Transfer) basieren und hiernach eingeteilt werden [265, 266]. Dabei werden für Erdbeeren vor allem die folgenden Tests eingesetzt:

- Gesamtphenole nach Folin-Ciocalteu [45, 69, 77-86],
- TEAC – Trolox Equivalence Antioxidant Capacity [45, 52, 78, 85, 148, 233, 267-269]
- ORAC – Oxygen Radical absorbance Capacity [65, 66, 80, 83, 84, 86, 169, 256, 267],
- FRAP – Ferric Reducing Ion Antioxidant Power [45, 78, 84, 148, 267, 268] oder
- DPPH - 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl [69, 81, 86, 129, 267, 270, 271].

Zudem gibt es Methoden, die weniger üblich sind, wie den β -Carotin-Bleaching Test [69, 84, 173] oder die Lipidperoxidation mittels Thiobarbitursäure [148].

Um die Ergebnisse der antioxidativen Kapazität für pflanzliche Lebensmittel, Öle und Getränke von verschiedenen Laboren vergleichen zu können, geben Pérez-Jiménez et al. [272] eine Hilfestellung die vier meist genutzten *in vitro* Tests FRAP, TEAC, DPPH und ORAC für zu vereinheitlichen. Wie bereits im Abschnitt zuvor erwähnt, ist eine optimale Probenvorbereitung essentiell, so dass sich beispielsweise durch den Mahlprozess weder Substanzen abbauen noch die Bildung neuer Antioxidantien hervorgerufen wird. Dabei ist die Partikelgröße möglichst klein zu wählen, um die Oberfläche zu erhöhen und die Penetration des Lösungsmittels zu verbessern. Extraktionsmittel und -bedingungen (Dauer, Temperatur, Anzahl) spielen bei der Effizienz eine wesentliche Rolle. Darüber hinaus ist zu berücksichtigen, dass u.a. die Polarität des gewählten Extraktionsmittels auf das Testsystem starken Einfluss nimmt. Das zeigte eine Untersuchung von reinen Standards, die in verschiedenen Lösemitteln gelöst waren [273]. Zudem finden Interferenzen mit weiteren nicht-antioxidativ wirkenden Lebensmittelinhaltsstoffen wie Zucker, Pektinen oder Aminosäuren statt, die je nach gewähltem Lösemittel eine Verstärkung oder Suppression des Signals hervorrufen können. Aufgrund von verschiedenen Vor- und Nachteilen der Methoden, Reaktionsmilieus und Mechanismen wird von Pérez-Jiménez et al. [272] empfohlen, dass mindestens zwei der genannten Testsysteme zu verwenden sind, um die antioxidative Kapazität einer Probe zu charakterisieren. In diesem Zusammenhang spielen auch die unterschiedliche antioxidative Kapazität von Reinsubstanzen und synergistische Effekte von Gemischen insbesondere mit Ascorbinsäure je nach Testsystem eine Rolle [248, 274, 275]. Bei der Isolierung von zehn phenolischen Inhaltsstoffen der Erdbeere und der Bestimmung der antioxidativen Kapazität (TEAC) zeigten sich z. T. immense Unterschiede [276]. Wang et al. [66] führten den Beitrag einzelner Flavonoide und Phenolcarbonsäuren in Erdbeeren

zur antioxidativen Kapazität (ORAC) auf. Eine weitere Möglichkeit die Einzelsubstanzen von Fruchtinhaltsstoffen auf ihre antioxidative Kapazität zu testen ist die Flüssigkeitschromatographie gekoppelt mit einem antioxidativen Test wie TEAC mittels Nachsäulenderivatisierung [277]. Angewendet wurde dieses Verfahren zum einen bei der Bestimmung der phenolischen Inhaltsstoffe der Erdbeere, um das erhaltene Chromatogramm zusätzlich zu charakterisieren [268] und zum anderen bei der Schwarzen Johannisbeere, Blaubeere, Himbeere, Rote Johannisbeere und Cranberry [103], um detailliert den prozentualen Beitrag der einzelnen antioxidativen Inhaltsstoffe wie Ascorbinsäure, Flavonole, Anthocyane, Ellagannine oder Proanthocyanidine zu bestimmen.

2.5.3 Weitere Summenparameter mittels kolorimetrischer Methoden

Neben den zuvor beschriebenen Antioxidantien-Tests gibt es weitere Möglichkeiten phenolische Inhaltsstoffe photometrisch zu erfassen und zu quantifizieren. Im Falle der Proanthocyanidine, den kondensierten Tanninen, finden hierbei die Vanillin-, DMAZA (Dimethylammonium-Zimtaldehyd)- oder Butanol-HCl-Methode Anwendung [250]. Für die hydrolysierbaren Tannine hingegen eignen sich Methoden unter Verwendung von Kaliumiodat, Rhodanin und Natriumnitrat [250, 263, 278]. Eine häufig angewandte Schnellmethode ist die Flavonoidbestimmung mit Aluminiumchlorid [279], wobei diese Methode ebenfalls für die Untersuchung an Erdbeeren eingesetzt wurde [95, 96, 280]. Vielfach wird die pH-Shift-Methode zur Bestimmung von Anthocyanen verwendet, die das Absorptionsmaximum von Anthocyanen zwischen 490 und 550 nm und die damit verbundene rote bis violette Farbe ausnutzt [281]. Diese Methode zeigt gute Korrelationen zur HPLC-Bestimmung und wird vielfach für Erdbeeren angewandt [282].

2.5.4 Chromatographische Verfahren und Detektionsmethoden

Für die Analyse von einzelnen phenolischen Verbindungen werden im Allgemeinen chromatographische Methoden gewählt. Die in Kapitel 2.5.1 beschriebenen Extrakte werden weiteren Verfahren zur Isolierung, Auftrennung, Quantifizierung oder Identifizierung unterzogen, deren Einsatz abhängig von der wissenschaftlichen Fragestellung ist. Um die Inhaltsstoffe zu isolieren, können die Extrakte mittels Counter-Current Chromatographie (CCC) bzw. High-Speed Centrifugal Counter-Current Chromatographie (HSCCC) fraktioniert werden [250]. Bei beiden Verfahren wird eine Flüssig-Flüssig-Extraktion mit nicht mischbaren Lösemitteln durchgeführt. Diese Methoden wurde zur Identifizierung von Anthocyanen und weiteren Phenolen in Erdbeeren eingesetzt [129, 260].

Standardmäßig wird für die Auftrennung von phenolischen Verbindungen die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) verwendet [248-251]. Die Extrakte werden in der Regel an RP-18 (reversed phase-C18)-Säulen aufgetrennt, wobei i. A. ein Gradientenprogramm verwendet wird, das einen organischen Eluenten wie Acetonitril oder Methanol und einen wässrigen Eluenten enthält, der mit Ameisensäure, Essigsäure oder Phosphorsäure angesäuert ist [249-251]. Die verwendeten Detektionssysteme sind in der Regel UV/VIS, PDA, MS, Fluoreszenz oder Coulometrie. Bei der Analyse von phenolischen Inhaltsstoffen in Erdbeeren wird für vergleichende quantifizierende Untersuchungen in der Regel der PDA-Detektor angewandt [65, 66, 83, 275]. Jede Verbindung zeigt, je nach phenolischem Grundgerüst und Glycosidierung, ein charakteristisches Spektrum mit einem Absorptionsmaximum zwischen 240 bis 285 nm und 300 bis 550 nm [283]. Für detailliertere Strukturhinweise und die Ermittlung des Molekulargewichts von chemischen Verbindungen ist die Massenspektrometrie (MS) die Methode der Wahl. Diese Methode spielt bei der Identifizierung von phenolischen Komponenten eine große Rolle, wobei die LC-Systeme in der Regel mit einer Elektrospray-Ionisation (ESI) und MS/MS gekoppelt sind [248, 284]. Bei Erdbeeren wurden diese Methoden zur Charakterisierung und Identifizierung von phenolischen Inhaltsstoffen angewandt [60-62, 129, 253, 257, 260]. Ein weiteres Werkzeug zur Strukturanalyse ist die NMR (Nuclear Magnetic Resonance)-Spektrometrie, die auch bei Erdbeerphenolen Anwendung fand [96, 262] und ebenfalls mit der Flüssigchromatographie gekoppelt werden kann [248, 284].

Polyphenole sind wie bereits erwähnt in der Regel mit Zuckern konjugiert oder liegen verestert vor. Aus diesem Grund wird nach oder während der Extraktion eine Säurehydrolyse durchgeführt, um die auf diese Weise erhaltenen Aglycone zu quantifizieren [27]. Ebenso wird für die Bestimmung von hydrolysierbaren Tanninen eine methanolische Säurehydrolyse durchgeführt. Dabei wird Hexahydroxydiphensäure (HHDP) freigesetzt, das weiter zu Ellagsäure laktonisiert, die schließlich quantifiziert wird [29]. Ferner werden metabolomische Untersuchungen unter Einsatz der oben genannten analytischen Verfahren durchgeführt und mit chemometrischen Analysen verknüpft, um vergleichende Untersuchungen durchzuführen [56, 72, 97, 133].

Die Untersuchung von Proanthocyanidinen gestaltet sich aufgrund von geringen Absorptionskoeffizienten und schlechter Trennbarkeit an RP-Phasen aufwendiger; daher wird bei der Analytik dieser Substanzklasse auf Säulen mit Normalphase [64, 102, 285] zurückgegriffen bzw. eine Derivatisierung mit Phloroglucinol [64, 102, 286], eine thiolytische Spaltung [102, 285, 287] oder eine Nachsäulenderivatisierung mittels DMAZA [288] angewandt.

3

Auswahl von Material und Methoden

3.1 Hintergrund und Aufbau

Genaue Angaben zu Material und Methoden einschließlich der Versuchsbeschreibungen und der statistischen Auswertung finden sich in den einzelnen Kapiteln. Insbesondere in den Publikationen der Kapitel 4, 6 und 9, wird die chemische Analytik detailliert beschrieben. Deshalb wird an dieser Stelle auf eine zusätzliche Beschreibung der chemischen Analytik verzichtet.

3.2 Pflanzmaterial und Versuchsaufbau

Um externe Einflussfaktoren während des Pflanzenwachstums auf wertgebende Fruchthaltstoffe der Erdbeere, zu ermitteln wurden von 2007 bis Anfang 2010 verschiedene Freiland- und Gewächshausversuche an Erdbeerpflanzen durchgeführt. Die Versuche bestanden aus drei Wiederholungen à 40 bis 50 Pflanzen. Als Sorte wurde 'Elsanta' gewählt, die in Mitteleuropa eine der Haupterdbeersorten darstellt [39]. Ferner wurden die einmaltragenden Sorten 'Korona' und 'Clery' im Rahmen des unten beschriebenen Klimaver Versuches (vgl. Kapitel 6) verwendet. Um die Versuche zeitlich zu versetzen und Variationen der Saison von Sommer und Herbst zu untersuchen, wurde darüber hinaus, die remontierende Sorte 'Everest' eingesetzt. Durch eine regelmäßige Aufzeichnung von PAR (photosynthetisch aktiver Strahlung) und der Umgebungstemperatur wurden unterschiedliche Wachstumsbedingungen der Versuche erfasst. Die Bodenfeuchte wurde zweimal wöchentlich gemessen, wobei bei Unterschreitung der Bodenfeuchte von 250 hPa einmalig bewässert wurde. Des Weiteren wurde von Erdbeerpflanzen, aus ausgewählten Versuchsreihen, die Blattfläche gemessen sowie die Entwicklungsdauer von der Blüte bis zur Reife der Früchte durch eine Markierung der Blüten bei Blühbeginn festgehalten. Die Früchte wurden in der Regel zwei Mal wöchentlich geerntet und der Ertrag pro Pflanze dokumentiert. Die Probenahme für die chemische Analyse fand an zwei Terminen in der ersten und zweiten Erntewoche statt und bestand aus 500 g (mindestens 20 Stück) unbeschädigter, reifer Früchte, die direkt schockgefroren wurden.

3.3 Behandlungen und Versuchsbeschreibung

In den folgenden Kapiteln werden die wichtigsten Ergebnisse der durchgeführten Versuche vorgestellt. Je nach Untersuchungsziel konnten diese in zwei Hauptgruppen unterteilt werden:

I. *Einfluss von Umweltfaktoren einschließlich Klima- und Wetteränderungen auf wertgebende Inhaltsstoffe*

Dazu wurden die Früchte einer remontierenden Sorte über die gesamte Vegetationsperiode untersucht. Hierbei sollten der Einfluss der Entwicklungsdauer der Früchte und äußere Einflüsse wie Tageslänge, Temperatur oder Einstrahlung berücksichtigt werden. Desgleichen sollte durch den Anbau von Erdbeeren an fünf Standorten in Europa der Einfluss des Breitengrades und damit klimatischer Bedingungen wiederum unter dem Aspekt Temperatur, Tageslänge, und Einstrahlung erfasst werden. Zu diesem Zweck wurden Standorte in Norwegen, Dänemark, Deutschland, Schweiz und Italien gewählt.

II. *Einfluss von Kulturmaßnahmen auf die sekundären Inhaltsstoffe und Standardqualitätsparameter der Erdbeere.*

Hierzu wurden Versuche zum Einfluss von Bodenbedeckungsmaßnahmen durchgeführt. Die Standardkulturführung ebenerdiger Anbau mit Stroheinlage wurde der seit einigen Jahren vermehrt durchgeführten Dammkultur gegenübergestellt. Außerdem wurden sowohl beim ebenerdigen Anbau als auch bei der Dammkultur der Einsatz weißer und schwarzer Mulchfolie verglichen. Weiterhin sollte der Einfluss des Anbaus im Folientunnel erfasst werden. Da der überwiegende Teil der UV-B-Strahlung durch die Standardfolie absorbiert wird und aus diesem Grund nicht auf die Pflanze wirken kann, sollte der Einfluss von Strahlung in einem konventionellen Folientunnel (UV-B-undurchlässig) und einem Folientunnel mit UV-B durchlässiger Folie (UVB-Window-Folie, die etwa 70 % der UV-B-Strahlung durchlässt) im Vergleich zum Anbau im Freiland untersucht werden.

Um die Ergebnisse der Bodenbedeckungsversuche, des Klimaversuches und des lokalen Wettereinflusses besser deuten zu können, wurden in einem Basisversuch Erdbeeren unter zwei Temperaturführungen im Gewächshaus produziert. Zusätzlich wurde bei einer Variante die Bodentemperatur erhöht.

Im Rahmen zweier Bachelorarbeiten wurde in Zusammenarbeit mit der Universität Gießen darüber hinaus eine Studie zum Einfluss der Fruchtordnung und des Reifegrades auf die wertgebenden Inhaltsstoffe der Erdbeere durchgeführt [111, 289]. Die Ergebnisse sollten Rückschlüsse auf Variationen der Probenzusammensetzung geben.

3.4 Wahl des Probenmaterials, Extraktionsbedingungen und Analysenparameter

Durch Vorversuche wurden die Probenvorbereitung und die Wahl des Extraktionsmittels festgelegt. Bei diesen Versuchen wurden das Probenmaterial (frisch und gefriergetrocknet), das Extraktionsmittel (Aceton 100 %, Aceton 80 % (v/v), Methanol 100 %, Methanol 80 % (v/v), und Methanol mit Ameisensäure 1 % (v/v)) und die Anzahl der Extraktionsschritte variiert und miteinander verglichen. Für die Auswahl der Extraktionsbedingungen waren das hohe Probenaufkommen, eine zügige Verarbeitung der Proben und die Wahl der analytischen Methoden wie die Summenparameter und HPLC ausschlaggebend. Bei drei Extraktionsschritten verhielten sich die Peakintensitäten des HPLC-Chromatogramms in einem durchschnittlichen Verhältnis von 7,0 : 2,5 : 0,5. Das HPLC-Profil zeigte vereinzelte Variationen in Abhängigkeit vom Extraktionsmittel und vom Probenmaterial. Es konnten jedoch keine wesentlichen Vor- und Nachteile in der Effektivität des Extraktionsmittels evaluiert werden. Lediglich durch die Optimierung des Wassergehaltes konnte die Extraktionsausbeute deutlich verbessert werden, wohingegen eine Ansäuerung des Extraktes das Signal einzelner Verbindungen nur leicht (ca. 5 %) verstärkte. Da eine Säurehydrolyse der phenolischen Verbindungen oder die Bildung von Addukten während der Lagerung der Extrakte vermieden werden sollte, wurde auf die Zugabe von Ameisensäure verzichtet. Aufgrund von schärferen Peaks im Vergleich zu Aceton wurde Methanol mit einem Wassergehalt von 20 % als Extraktionsmittel gewählt.

Bei der Probenahme sollten personenbezogene Variationen vermieden werden, weshalb jene ausschließlich von einem Probenzieher durchgeführt wurde. Da die Erdbeersaison verhältnismäßig kurz ist, musste berücksichtigt werden, dass z. T. mehr als 30 Proben (entspricht 15 kg Erdbeeren) an einem Tag gezogen wurden und verarbeitet werden mussten. Da gefrorene Erdbeeren schwer händelbar sind und beim Auftauen starke Verluste vor allem des Vitamin C-Gehaltes zu beobachten sind, wurden die Früchte nach der Probenahme geviertelt und schockgefroren und zu einem späteren Zeitpunkt mit flüssigem Stickstoff zu einem Pulver vermahlen.

Die extrahierten Fruchtproben wurden zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität mit drei verschiedenen Methoden analysiert. Als Vertreter des HAT-Mechanismus wurde der ORAC-Test [290], als Vertreter des ET-Mechanismus der TEAC-Test [291] und zusätzlich die Bestimmung der Gesamtphenole nach Folin-Ciocalteu [292] gewählt. Im Rahmen dieser Arbeit wurden die beiden letztgenannten Methodiken vereinfacht, so dass alle drei Testsysteme im 96-well-Plattenformat durchgeführt werden konnten. Die Etablierung auf das Plattenformat wird im Kapitel 3.5 beschrieben. Die mengenmäßig wichtigsten antioxidativen Inhaltsstoffe in Erdbeeren sind Anthocyane, Ellagtannine, Proanthocyani-

dine sowie Ascorbinsäure (vgl. Kapitel 2.1). Darum wurden diese Substanzgruppen mit folgenden Schnellverfahren analysiert: die Anthocyane mittels pH-Shift nach Giusti et al. [281], Proanthocyanidine photometrisch nach Reaktion mit DMAZA [293, 294] und Ellag-tannine nach Hydrolyse mittels HPLC als Ellagsäure [29]. Die Ascorbinsäure wurde im Oxalsäureextrakt iodometrisch quantifiziert. Um die einzelnen phenolischen Inhaltsstoffe zu bestimmen, wurde die Extrakte weiterhin mittels HPLC untersucht. Zur Beurteilung der Variation an Tanninen wurde ausgewählte Proben mit Sephadex LH-20 aufgereinigt und mittels LC-MS/MS analysiert (vgl. Kapitel 7). Darüber hinaus wurde um die konventionel-len Qualitätsparameter zu erfassen und Hinweise auf die sensorische Qualität zu erhalten, die Gesamtsäure potentiometrisch und die lösliche Trockenmasse refraktometrisch be-stimmt. Überdies wurde die absolute Trockenmasse gravimetrisch bestimmt, um die Er-gebnisse sowohl auf Trockensubstanz als auch auf Frischgewicht beziehen zu können. Die genannte Methode wurden in Anlehnung an der Amtlichen Sammlung von Unter-suchungsmethoden nach § 64 Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch (LFGB) durch-geführt. Zudem fand eine sensorische Beurteilung der Versuche statt, die in Kapitel 8 detaillierter erläutert wird. Die statistische Auswertung erfolgte wie in den Publikationen beschrieben.

3.5

Testsysteme zur Messung von antioxidativen Inhaltsstoffen: Anwendung, Möglichkeiten und Grenzen – ein Methodenvergleich

Original-Publikation:

Dieses Kapitel erschien
in der Deutschen Lebensmittel-Rundschau (2010), 106
S. 254–262
von Melanie Josuttis, Dirk Hofmann, Claus-Dieter Patz und Helmut Dietrich

Reprinted with permission

Eigene Leistung:

Implementierung der Methoden, wesentliche Planung des Versuches, zentrale
Arbeiten bei der Versuchsdurchführung und Auswertung, schriftliche Abfassung der Publikation mit dem Zweitautor

254 Originalarbeiten ◀◀

Schlussfolgerung

Die Richtigkeit der vap-C-KFT-Methode zur Wassergehaltsbestimmung fester Lebensmittel wird in erster Linie durch die optimale Ofentemperatur bestimmt. Für die untersuchten Proben (Knäckebrot, Kaffee, Kakao, Zwieback) erwies sich eine Ofentemperatur von 120 °C als geeignet, den adsorptiv gebundenen Wasseranteil in den Proben zuverlässig zu erfassen. Durch Standardadditionsversuche konnte eine quantitative Wiederfindung des dotierten Wasseranteils belegt werden. Vergleichbare Ergebnisse wurden durch eine zusätzliche Vorextraktion der Proben mit Methanol erzielt.

Literatur

- [1] Sanchez V et al.: Comparison between Karl Fischer and refractometric method for determination of water content in honey. *Food Control* **21**, 339–341 (2010).
- [2] Isengard HD: Water determination – Scientific and economic dimensions. *Food Chem* **106**, 1393–1398 (2008).
- [3] Isengard HD: Water content, one of the most important properties of food. *Food Control* **12**, 395–400 (2001).
- [4] ASU 40.00-2, § 64 LFGB: Untersuchung von Honig; Bestimmung des Wassergehaltes; Refraktometrisches Verfahren (1992).
- [5] ASU 16.01-1, § 64 LFGB: Bestimmung des Feuchtigkeitsgehaltes in Getreidemehl (2008).
- [6] Isengard HD, Präger H: Water determination in products with high sugar content by infrared drying. *Food Chem* **82**, 161–167 (2003).
- [7] Isengard HD et al.: Alternatives to official analytical methods used for the water determination in honey. *Food Control* **12**, 459–466 (2001).
- [8] Schöffski K: New Karl Fischer reagents for the water determination in food. *Food Control* **12**, 427–429 (2001).
- [9] Reh C et al.: Determination of water content in powdered milk. *Food Chem* **86**, 457–464 (2004).
- [10] De Caro CA et al.: Efficient, precise and fast water determination by the Karl Fischer titration. *Food Control* **12**, 431–436 (2001).
- [11] Kestens V et al.: Vaporisation coulometric Karl Fischer titration: A perfect tool for water content determination of difficult matrix reference materials. *Food Chem* **106**, 1454–1459 (2008).
- [12] Margolis SA et al.: Measurement of water by oven evaporation using a novel oven design – Part 1: Water in water-saturated 1-octanol, coal, cement, and refined oils. *Anal Bioanal Chem* **380**, 556–562 (2004).
- [13] Margolis SA et al.: Measurement of water by oven evaporation using a novel oven design – Part 2: Water in motor oils and motor oil additives. *Anal Bioanal Chem* **380**, 843–852 (2004).
- [14] ASU 46.02-1, § 64 LFGB: Bestimmung des Wassergehaltes nach Karl Fischer Verfahren für Röstkaffee (1988).

Testsysteme zur Messung von antioxidativen Inhaltsstoffen: Anwendung, Möglichkeiten und Grenzen – ein Methodenvergleich

M. Josuttis^{1,2}, D. Hofmann², C.-D. Patz² und H. Dietrich²

¹ Hochschule RheinMain – University of Applied Sciences, Fachbereich Geisenheim und

² Forschungsanstalt Geisenheim, Fachgebiet Weinanalytik und Getränkeforschung, Von-Lade-Str. 1, 65366 Geisenheim

Zusammenfassung

Antioxidanzientests sind eine effektive Möglichkeit, um etliche bioaktive Stoffe summarisch schnell zu bestimmen. Dabei kommen verschiedene Verfahren zur Anwendung. Es wurde die Bestimmung der Gesamtphenole und des TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)-Tests mit einer konventionellen Küvetten-Methode und einer Mikroplatten-Methode verglichen. Beide Methoden unterschieden sich nur geringfügig in ihrer Genauigkeit. Die Ergebnisse waren untereinander vergleichbar. Die Methode mittels Microplate-Reader ist kostengünstiger und schneller. Es wurden 33 Produkte frisch und nach drei Wochen Tiefkühlagerung auf Gesamtphenole, TEAC und ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) analysiert. Die antioxidative Kapazität der Proben erwies sich als weitestgehend stabil. Alle drei vorgestellten Methoden sind für eine schnelle und zuverlässige Messung der antioxidativen Kapazität geeignet.

Summary

Antioxidant assays are an effective possibility in order to determine a number of bioactives quickly. There are different procedures of the application to do this. The determination of the total phenols and the TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) test with a conventional cuvette method and a microplate method was compared. Both methods were slightly different in their accuracy. The achieved results were comparable. The method by means of microplate reader also

offered a shorter analysis time besides economic advantages. 33 products were analyzed fresh and after three weeks storage at –18 °C onto total phenols, TEAC and ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity). The antioxidative capacity is stable during storage. All three presented methods were suitable for the measurement of the antioxidative capacity.

Abbildung 5 finden Sie im Internet unter www.dlr-online.de → DLR Plus, Passwort: Spargelsuppe

1 Einleitung

Bioaktive Inhaltsstoffe in Lebensmitteln stehen im Interesse von Verbrauchern, die eine gesundheitsbewusste Ernährung anstreben. Zu diesen Verbindungen zählen in erster Linie sekundäre Pflanzenstoffe, deren genaue Zahl bisher unbekannt ist: Schätzungen gehen von 60 000–100 000 Substanzen aus (Watzl und Leitzmann, 1999). Im Mittelpunkt stehen phenolische Inhaltsstoffe wie Flavonoide, Phenolcarbonsäuren und Stilbene, die durch ihre antioxidative Wirkung für viele gesundheitlich positive Effekte

verantwortlich sein sollen. Sie spielen vor allem durch ihre entzündungshemmende Wirkung und Vorbeugung von Krankheiten wie Arteriosklerose, Herz-Kreislaufkrankungen und Krebs in der Forschung und Lebensmittelentwicklung eine zentrale Rolle (Cieslik et al., 2006; Del Rio et al., 2010; Halliwell, 1996; Rodrigo und Bosco, 2003; Scalbert et al., 2002; Spencer et al., 1988; Stoclet et al., 2004; Wollgast und Anklam, 2000).

Aufgrund der großen Variabilität und Bandbreite der Verbindungen ist es sinnvoll, die Polyphenole als Summenparameter zu erfassen. So ist die Messung als antioxidative Kapazität eines Lebensmittels oder Getränkes in einem *In-vitro*-Test üblich (Huang et al., 2005; Prior et al., 2005). Die Bestimmungsmethoden basieren hauptsächlich auf zwei Mechanismen, dem Elektronentransfer (ET) und dem Wasserstoffatomtransfer (HAT).

Vertreter des Elektronentransfers sind die Bestimmung der Gesamtphenole nach Folin-Ciocalteu (Singleton und Rossi, 1965; Singleton et al., 1999), der 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)-Test (Jiménez-Escrig et al., 2000), der Ferric Ion Reducing Antioxidant Power (FRAP)-Test nach Benzie und Strain (1996), oder der Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC)-Test (Miller et al., 1993), auch in seiner modifizierten Form (Re et al., 1999). Die genannten Tests finden im wässrigen Milieu statt. Hierbei wird zum Beispiel ein farbiges, stabiles Radikal oder ein Metallkomplex durch vorhandene Antioxidanzien in der zu untersuchenden Probe reduziert und die Absorptionsänderung gemessen. Die Testsysteme unterscheiden sich weiterhin hinsichtlich des pH-Wertes und der antioxidativ wirksamen Bezugssubstanz.

Dem HAT-Mechanismus liegen der Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC)-Test (Cao et al., 1993; Dávalos et al., 2004; Huang et al., 2002a; Huang et al., 2002b; Ou et al., 2001; Ou et al., 2002), der Total Radical Trapping Antioxidant Parameter (TRAP)-Test (Ghiselli et al., 1995) oder Crocin Bleaching-Test (Bors et al., 1984) zugrunde. Die drei Testsysteme verwenden AAPH (2,2'-Azobis(2-methylpropionamidin)dihydrochlorid) zur Generierung von Peroxylradikalen, diese greifen ein farbiges beziehungsweise fluoreszierendes (TRAP, ORAC) Molekül an. Diese Reaktion wird beim Vorhandensein von Antioxidanzien verzögert. Weiterhin gibt es weniger verbreitete „Scavenging Tests“, welche die Kapazität des Abfangens von einzelnen reaktiven Sauerstoffspezies (z. B. Singulett-sauerstoff, Hydroxylradikale) bestimmen.

Die bekannteste der oben genannten Methoden ist die Bestimmung der Gesamtphenole. Phenolische Substanzen ergeben im alkalischen Milieu mit dem Folin-Ciocalteu-Reagenz, welches Wolfram und Molybdat enthält, eine Blaufärbung mit einem Absorptionsmaximum von 720 nm. Als Bezugssubstanz wird Gallussäure oder Catechin verwendet. Weiterhin haben sich im Bereich der Wein- und Getränkeanalytik der TEAC-Test, ein Vertreter des ET-Mechanismus sowie der ORAC-Test, ein Vertreter des HAT-Mechanismus etabliert. Das Prinzip des ORAC-Tests beruht darauf, dass Fluorescein mit Peroxylradikalen reagiert,

was zu einer Verminderung der Fluoreszenz führt. Bei Anwesenheit von Antioxidanzien wird die Fluoreszenzminde- rung durch das Abfangen der Peroxylradikale verzögert. Der Test wird in einer schwarzen 96-Well-Platte durchgeführt. Dabei wird der Probe Fluorescein und anschließend AAPH zugegeben und die Abnahme der Fluoreszenz während 80 Minuten jede Minute gemessen. Quantifiziert wird über die Fläche der erhaltenen Kinetikkurve als Trolox-äquivalente. Das wasserlösliche Vitamin E-Derivat Trolox wird ebenso beim TEAC-Test als Bezugssubstanz verwendet. Bei diesem Test wird ein stabiles Radikal aus 2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonsäure (ABTS^{•+}) generiert, welches bei 734 nm ein Absorptionsmaximum besitzt. Die Entfärbung der Probelösung ist dann ein Maß für die antioxidative Kapazität, welche in Trolox-Äquivalenten angegeben wird. Die Bedeutung dieser beiden Antioxidanzientests wird von Zuleta et al. (2009) detailliert diskutiert.

So muss bei Getränkeentwicklungen in kurzer Zeit eine Vielzahl von Rohstoffen, Säften, Konzentraten und Mischungen und deren Verhalten bei der Lagerung getestet werden. Ziel der Arbeit war daher die Übertragung etablierter Methoden auf ein schnelles Screening mittels eines Microplate-Readers. Die Ergebnisse des Methodenvergleichs werden durch einen Praxistest ergänzt, zusätzlich erfolgte eine Kostenrechnung anhand eines einfachen Beispiels beider Analyseverfahren.

2 Material und Methoden

2.1 Gerätevergleich

Die antioxidative Kapazität (TEAC) und die Gesamtphenole wurden mit zwei Methoden (Microplate-Reader und Fotometer) bestimmt. Zur Messung wurden ein Thermo Spectronic Unicam 500 Spektralfotometer und ein Microplate-Reader Tecan infinite M200 mit automatischer Injektionseinheit verwendet. Im Gegensatz zum Fotometer werden beim Microplate-Reader keine Küvetten verwendet, sondern Mikrotiterplatten. Dabei handelt es sich in der Regel um 96-Well-Platten. Für fotometrische Messungen sind die Kavitäten flach geformt und haben ein optimales Arbeitsvolumen von 200 µl.

Die Produkte (z. B. Orangensaft, Limonaden) wurden so gewählt, dass man eine möglichst große Spannweite der Ergebnisse erhielt, wobei unterschiedliche Produktgruppen mindestens fünffach wiederholt wurden. Die Analysen wurden mittels Spektralfotometer so durchgeführt, dass jede Messserie den Blindwert und alle Produkte beinhaltete (TEAC-I, Gesamtphenole). Aufgrund der Schwankungsbreite des TEAC-Wertes wurde dieser Test so gestaltet, dass zwei Messserien in Zehnfachbestimmung mit dem gleichen Produkt (Rotwein und Orangennektar) durchgeführt wurden (TEAC-II). Die Analyseverfahren wurden hinsichtlich Genauigkeit, Schnelligkeit und Kosten verglichen. Soweit es möglich war, wurden für beide Systeme die gleichen Lösungen, Standards und Verdünnungen verwendet.

256 Originalarbeiten

2.2 Bestimmung des TEAC-Wertes (mod. nach Re et al., 1999)

Alle Verdünnungen und Lösungen wurden mit 50 mM Kaliumhydrogenphosphatpuffer (pH 7,2–7,4) hergestellt. Die Trolox-Stammlösung bildete die Grundlage für die Aufnahme der Kalibriergeraden, mit welcher die Quantifizierung erfolgte. Die Messung der Standards und der Proben erfolgte jeweils nach genau sechs Minuten. Die Generierung des stabilen ABTS^{•+}-Radikals erfolgte mit Kaliumpersulfat. Die ABTS^{•+}-Radikallösung wurde so zu einer Arbeitslösung verdünnt, dass die Absorption bei 734 nm $0,800 \pm 0,050$ betrug.

In die Küvetten bzw. die 96-Well-Platte wurde zunächst Probe bzw. Standardlösung vorgelegt. Die Reaktion wurde anschließend durch Zugabe der ABTS^{•+}-Arbeitslösung gestartet. Nach genau sechs Minuten wurde die Probe gegen den Blindwert (Pufferlösung) gemessen. Tabelle 1 zeigt das Pipettierschema.

Die Kalibrierfunktion wurde aus einer Verdünnungsreihe von 0,025 bis 0,400 mmol/l Trolox aufgenommen. Die Stammlösung wurde dazu entsprechend mit Phosphatpuffer verdünnt. Die Aufnahme der Funktion erfolgte durch Bildung der Differenz aus dem Mittelwert der Doppelbe-

stimmung zum Blindwert. Die Kalibrierfunktion verläuft in diesem Arbeitsbereich linear.

2.3 Bestimmung der Gesamtphenole

Als Referenzgröße diente D(+)-Catechin-Hydrat. Die Proben wurden nach geeigneter Verdünnung analysiert. In einem Reagenzglas wurde bidestilliertes Wasser vorgelegt. Dazu wurden Probe beziehungsweise Kalibrierstandardlösung (Konzentration Standardlösung: Catechin 10 bis 100 mg/l) und Folin-Ciocalteu-Reagenz pipettiert. Auf der 96-Well-Platte wurde die Probe vorgelegt und mit Folin-Ciocalteu-Lösung versetzt, die zuvor mit bidestilliertem Wasser verdünnt (15 ml Wasser + 1 ml Reagenz) wurde. Der Reagenzienblindwert wurde durch Zusatz von bidestilliertem Wasser statt Probe ermittelt. Die Gläser wurden mit Hilfe eines Vortexrührers durchmischt, die Durchmischung der Platte erfolgte mit der Schüttelfunktion des verwendeten Gerätes. Nach 3 bis 6 min wurde Na₂CO₃-Lösung dazugegeben und erneut durchmischt. Das Pipettierschema ist in Tabelle 2 dargestellt. Die Messung erfolgte nach genau 60 min bei 720 nm gegen den Blindwert. Die Angabe der Ergebnisse erfolgt in mg/l (bzw. mg/kg) Catechineinheiten. Bei dem Versuch zur Lagerstabilität wurde die Bestimmung der Gesamtphenole mittels Analysenautomaten (Thermo Electron Corporation, Arena 20XTi) mit der hier beschriebenen Methode durchgeführt.

Tab. 1 Pipettierschema TEAC-Test

	Fotometer [µl]	Microplate-Reader [µl]
ABTS-Arbeitslösung (Abs.=0,8)	1900	190
Probe (Standard, Blindwert)	100	10
Summe	2000	200

Tab. 2 Pipettierschema Gesamtphenole

	Fotometer [ml]	Microplate-Reader [µl]
Wasser	7,5	–
Probe (Standard, Blindwert)	1,0	20
Folin-Ciocalteu-Reagenz	0,5	–
Verdünntes Folin-Ciocalteu-Reagenz	–	160
Natriumcarbonatlösung	1,0	20
Summe	10	200

2.4 Bestimmung des ORAC-Wertes

Da die Bestimmung sehr zeitintensiv ist, ist dieser Antioxidanzientest nur mittels 96-Well-Platte sinnvoll. Alle Verdünnungen und Lösungen wurden mit 75 mM KH₂PO₄-Puffer (pH 7,4) hergestellt. Es wurde 20 µl Probe bzw. Standard (Standardlösungen Trolox 12,5 µM bis 100 µM) in die Kavitäten einer schwarzen 96-Well-Platte vorgelegt. Als Blindwert wurde Phosphatpuffer verwendet. Anschließend wurden 120 µl einer 120 nM Fluoresceinlösung hinzugefügt. Nach Messung der Fluoreszenzintensität (= Startwert) bei einer Anregungswellenlänge von 485 nm und einer Emissionswellenlänge von 520 nm wurden 60 µl einer 40 mM AAPH-Lösung zugegeben und sofort vermessen. Der Startwert ist erforderlich zur Normierung der weiteren Messdaten, die jede Minute über 80 Minuten gemessen wurden. Der Test wurde bei 37 °C temperiert. Um Temperaturschwankungen zu vermeiden, wurden die äußeren Kavitäten (36 Wells) mit Puffer befüllt. Dies reduziert die Probenanzahl bei einer Dreifachbestimmung auf 15 Proben je Platte. Es wurde die Fläche der normierten Kinetik berechnet und durch Blindwertabzug korrigiert (vgl. graue Fläche in Abb. 1). Aus der korrigierten Fläche wurde mittels linearer Regression eine Kalibriergerade berechnet. Mit dieser wurde die Konzentration der Probe berechnet. Die Angabe erfolgt in mmol Troloxäquivalent pro kg bzw. pro Liter.

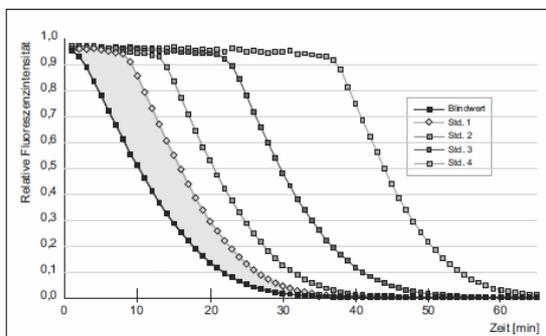


Abb. 1 Beispiel für die Auswertung einer ORAC-Standardreihe (graue Fläche entspricht Standard 1)

2.5 Bestimmung des Vitamin C-Gehaltes

Der Gehalt an Ascorbinsäure wurde mittels iodometrischer Titration bestimmt (MEBAK, 2002). 25 ml Getränk wur-

den in ein Becherglas überführt und mit einer Spatelspitze Kaliumiodid versetzt. Die Probe wurde anschließend mit 15 ml H₂SO₄ (10 %) angesäuert und mit 1/128 mol/l Iodid-Iodat-Lösung potenziometrisch titriert. Die Titration erfolgte automatisch (*Schott-Titrator*: Titroline Alpha Plus, Software: Titrisoft).

2.6 Anwendungsbeispiele

Das antioxidative Potenzial unter Verwendung der Methoden TEAC, Gesamtphenole und ORAC wurde bei einer Auswahl von 33 Bio-Getränken zunächst direkt bestimmt. Die Proben wurden anschließend bei -18 °C tiefgefroren und für drei Wochen gelagert. Nach dem Auftauen wurden die Proben erneut auf die drei Parameter analysiert. Die Messungen einschließlich der Kalibrierungen erfolgten am Fotometer in Doppelbestimmung und beim Microplate-Reader in Dreifachbestimmung, wegen einer möglichen Bildung von Luftblasen.

3 Ergebnisse

3.1 Antioxidative Kapazität (TEAC) mit Fotometer und Microplate-Reader

In Tabellen 3–4 und in Abbildung 2 sind die Ergebnisse der TEAC-I-Werte mit beiden Analysesystemen dargestellt. Mit dem Microplate-Reader wurden geringfügig höhere TEAC-Werte gemessen. Die Streuung der Fotometermessung war gegenüber der automatisierten Messung größer. Das liegt daran, dass die Wiederholungen der Produkte in unterschiedlichen Messserien durchgeführt wurden und die Mess-

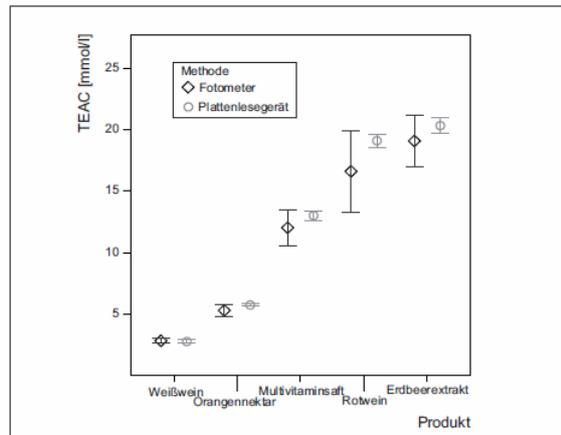


Abb. 2 Vergleich der TEAC-Ergebnisse aller Produkte, analysiert mit Fotometer und Microplate-Reader (s. Tab. 3–4)

zeit nicht genau eingehalten werden konnte. Außerdem verliert das stabile Radikal während der Messung an Intensität. Die Wiederholungen der automatisierten Messung wurden ebenfalls nicht aufeinanderfolgend bestimmt, jedoch auf derselben Platte mit der gleichen ABTS-Lösung durchgeführt. Der Einfluss durch den Farbbau der ABTS-Lösung wurde durch eine zweite Messserie (vgl. Tab. 5) bestätigt. Diese beinhaltet zwei Untersuchungen je Produkt mit mindestens fünf Messungen. Hierbei waren manuelle und automatisierte Messung vergleichbar. Dieses Experiment konnte nicht bestätigen, dass mit dem Microplate-Reader systematisch höhere TEAC-Werte bestimmt werden.

Tab. 3 TEAC-I-Werte Fotometer mit allen Produkten je Messserie (VF = Verdünnungsfaktor)

TEAC-I (n = 5)	Weißwein (VF = 10)	Limonadenwürze (VF = 25)	Erdbeersaft (VF = 100)	Rotwein (VF = 200)	Erdbeerextrakt (VF = 500)
Mittelwert [mmol/l]	2,8	5,1	11,5	16,3	18,3
Spannweite [mmol/l]	0,5	0,9	2,3	5,1	7,8
Standardabweichung [mmol/l]	0,2	0,4	0,9	1,9	2,6
Relative Standardabweichung [%]	6,9	7,0	7,6	11,7	14,0

Tab. 4 TEAC-I-Werte Microplate-Reader mit allen Produkten je Messserie

TEAC-I (n = 5)	Weißwein (VF = 10)	Limonadenwürze (VF = 25)	Erdbeersaft (VF = 100)	Rotwein (VF = 200)	Erdbeerextrakt (VF = 500)
Mittelwert [mmol/l]	2,8	5,7	13,0	19,1	20,4
Spannweite [mmol/l]	0,4	0,2	1,0	1,0	1,8
Standardabweichung [mmol/l]	0,1	0,1	0,4	0,4	0,6
Relative Standardabweichung [%]	5,0	1,4	3,0	2,3	2,9

Tab. 5 TEAC-II-Werte Fotometer und Microplate-Reader mit einem Produkt je Messserie

TEAC-II (n = 10)	Orangennektar (VF = 10)		Rotwein (VF = 200)	
	Fotometer	Microplate-Reader	Fotometer	Microplate-Reader
Mittelwert [mmol/l]	2,5	2,6	22,5	21,2
Spannweite [mmol/l]	0,4	0,2	1,3	3,5
Standardabweichung [mmol/l]	0,2	0,1	0,4	0,9
Relative Standardabweichung [%]	6,0	2,2	1,8	4,3

258 Originalarbeiten

3.2 Gesamtphenole mit Fotometer und Microplate-Reader

Tabellen 6 und 7 und Abbildung 3 stellen die Ergebnisse der Gesamtphenolbestimmung beider Systeme dar. Die Analysendaten sind vergleichbar, wobei die Messdaten der Fotometermessung im Mittel größer waren als die des Microplate Readers. Die Differenz der beiden Systeme lag mit Ausnahme des Weißweines unter 10 %. Im Gegensatz zum TEAC-Test ist die Bestimmung der Gesamtphenole robuster. Dies ist an der vergleichbaren Messpräzision der beiden Methoden erkennbar, die relative Standardabweichung lag für alle Produkte unter 5 %, obwohl pro Messserie unterschiedliche Produkte verwendet wurden.

3.3 Vergleichbarkeit der Geräte

Die Vergleichbarkeit beider Methoden auf beiden Analysensystemen wurde statistisch überprüft. Die Prüfung auf signifikant verschiedene Mittelwerte per t-Test führte bei beiden Parametern zur Annahme der Nullhypothese (s. Tab. 8), sodass die Ergebnisse der beiden verwendeten Geräte vergleichbar sind.

3.4 ORAC

Im Vergleich zu den beiden anderen Methoden ist der ORAC-Test zeitintensiver und aufwendiger aufgrund der erforderlichen Temperierung der Reagenzien. In Tabelle 9

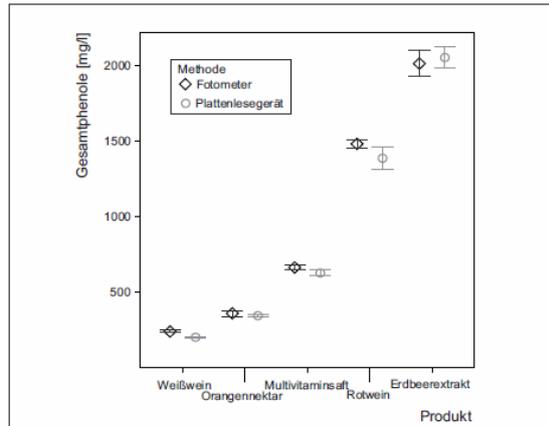


Abb. 3 Vergleich der Gesamtphenolergebnisse aller Produkte, analysiert mit beiden Methoden (s. Tab. 6–7)

sind die Ergebnisse einer Serienuntersuchung von drei Produkten dargestellt.

3.5 Kostenvergleich Fotometer und Microplate-Reader

Die hier vorgestellte Betrachtung beschränkt sich auf Material- und Arbeitskosten. In die Berechnung fließen aktuelle Marktpreise zufällig ausgewählter Lieferanten ohne

Tab. 6 Gesamtphenole nach fotometrischer Bestimmung

Gesamtphenole Fotometer (n = 5)	Weißwein (VF = 10)	Orangennektar (VF = 10)	Multivitaminsaft (VF = 50)	Rotwein (VF = 100)	Erdbeerextrakt (VF = 500)
Mittelwert [mg/l]	236	356	661	1482	2015
Spannweite [mg/l]	16	38	32	43	172
Standardabweichung [mg/l]	6	16	12	20	69
Relative Standardabweichung [%]	2,6	4,5	1,9	1,4	3,4

Tab. 7 Gesamtphenole nach Bestimmung mit Microplate-Reader

Gesamtphenole Fotometer (n=5)	Weißwein (VF = 10)	Orangennektar (VF = 10)	Multivitaminsaft (VF = 50)	Rotwein (VF = 100)	Erdbeerextrakt (VF = 500)
Mittelwert [mg/l]	197	343	630	1386	2043
Spannweite [mg/l]	6	11	44	104	137
Standardabweichung [mg/l]	3	5	18	46	59
Relative Standardabweichung [%]	1,4	1,4	2,9	3,3	2,9

Tab. 8 Statistische Auswertung Gerätevergleich der gemessenen Proben

Statistik bei gepaarten Stichproben	TEAC [mmol/l]		Gesamtphenole [mg/l]	
	Fotometer	Microplate-Reader	Fotometer	Microplate-Reader
Mittelwert	11,4	11,9	1129	1087
Standardabweichung	8,2	8,1	675	704
Korrelation R ²	0,96		0,99	
Steigung	0,976		1,017	
Ordinatenabschnitt	0,67		-43,68	
Vergleichsstandardabweichung	1,14		50	
Vergleichbarkeit	3,19		139	
Relative Standardabweichung [%]	9,7		4,5	

Tab. 9 ORAC-Microplate-Reader

ORAC-Microplate-Reader (n = 15)	Weißwein (VF = 200)	Smoothie 1 (VF = 500)	Smoothie 2 (VF = 500)
Mittelwert [mmol/l]	3,9	15,3	12,9
Spannweite [mmol/l]	1,0	1,4	0,9
Standardabweichung [mmol/l]	0,3	0,5	0,4
Relative Standardabweichung [%]	8,2	2,9	2,7

Tab. 10 Preise der Produktionsfaktoren

Produktionsfaktoren	Preis [€]	Verpackungseinheit	Dimension	Anbieter	Preis/Faktor
Platten transparent	171	180	Stück	Nunc/VWR	0,95
Küvetten	8,23	100	Stück	Brand/VWR	0,08
Folin-Ciocalteu-Reagenz	40,60	500	ml	Merck/VWR	40,60
Catechin	82,30	10	g	Sigma-Aldrich	0,35
Natriumcarbonat	51,20	1000	g	Merck/VWR	10,24
Trolox	128	5	g	Sigma-Aldrich	0,82
ABTS	46,10	1	g	Sigma-Aldrich	3,55
Kaliumdihydrogencarbonat	56,50	1000	g	Merck/VWR	0,07
Dikaliumhydrogencarbonat	48,90	1000	g	Merck/VWR	0,35
Kaliumpersulfat	46,80	250	g	Merck/VWR	0,00
ABTS-Arbeitslösung	3,97	1	l	manuell	3,97

Gewährung von Kundenrabatten ein. Zugrunde gelegt wird die Analyse von 26 einzelnen Proben, die wahlweise in Doppelbestimmung mittels Fotometer oder in Dreifachbestimmung mittels Microplate-Reader auf die Parameter TEAC und Gesamtphenole analysiert werden. Tabelle 10 zeigt zunächst die Preise der verschiedenen einzusetzenden Produktionsfaktoren bei beiden Input-Output-Systemen, wobei der Faktoreinsatz in der letzten Spalte genannt ist. Alle angesetzten Lösungen werden bei dem gewählten Versuchsaufbau nicht vollständig aufgebraucht. Die Restvolumina an Lösungen werden hier nicht einzeln angegeben, jedoch bleiben bei dem Microplate-Reader deutlich mehr

Volumina übrig, die für eine noch größere Probenanzahl verwendet werden könnten. Ein weiterer Punkt, der bei dieser grundlegenden Betrachtung unberücksichtigt bleibt, ist das Thema Abfallentsorgung. Da bei der Bestimmung der Gesamtphenole Schwermetallabfall anfällt, der getrennt entsorgt werden muss, entstehen hier in der Praxis weitere Kosten. Die beim Fotometer einzusetzenden Reagenzgläser aus Glas müssen gespült werden, wodurch auch hier Folgekosten entstehen. Eine Kostenaufstellung zu beiden Analyseparametern auf beiden Input-Output-Systemen zeigt Tabelle 11. Besonders deutlich treten die Unterschiede bei den Faktorgesamtkosten in den Vordergrund. Hier ist

Tab. 11 Kostenvergleich Fotometer und Microplate-Reader

Parameter	Fotometer		Microplate-Reader	
	TEAC	Gesamtphenole	TEAC	Gesamtphenole
Anzahl Messungen	52	52	78	78
Anzahl Blindwerte	10	2	3	3
Anzahl Standards	10	10	15	15
Summe Einzelmessungen	72	64	96	96
Stückkosten Microtiterplatten			0,95	0,95
Stückkosten Küvetten/Kavitäten	0,08	0,08	0,01	0,01
Kosten Probengefäße [€]	5,93	5,27	0,95	0,95
Faktoreinsatz je Batch [€]				
ABTS	0,54		0,07	
Folin		2,60		0,08
Natriumcarbonat		0,66		0,02
Stammlösung Standard	1,09	0,35	1,09	0,35
Faktorgesamtkosten [€]	7,56	8,87	2,11	1,40
Messzeitaufwand [min]	90	115	30	88
Arbeitszeit	90	55	30	28
Lohnkosten [30 €/h brutto]	45	27,5	15	14
Gesamtkosten [€]	52,56	36,37	17,11	15,40

260 Originalarbeiten

Tab. 12 Ergebnisse vor dem Einfrieren der Proben

Produkt	Produktbezeichnung	TEAC [mmol/l]	Gesamtphenole [mg/l]	ORAC [mmol/l]	Vitamin C [mg/l]
Limonaden (n = 5)	Limo Cola	0,5	92	n.b.	13
	Limo Elderflower	0,6	64	0,7	9
	Limo Ginger	0,7	67	0,7	10
	Limo Lemonade	0,8	96	2,0	10
	Limo Cranberry	1,1	120	3,1	12
Karottensäfte (n = 3)	Karottensaft	2,2	328	5,8	81
	Karottensaft mit Honig	2,5	394	5,5	215
	Karottensaft mit Honig	3	454	7,5	200
Tomatensäfte (n = 2)	Tomatensaft mit Meersalz	2,6	303	4,7	183
	Tomatensaft mit Meersalz	2,8	330	5,8	190
Gemüsesäfte (n = 2)	Gemüsesaft	2,6	347	5,1	121
	Gemüsesaft Direktsaft	2,8	329	5,6	140
Sauerkrautsäfte (n = 2)	Sauerkrautsaft milchsauer vergoren	4	463	4,9	365
	Sauerkrautsaft milchsauer vergoren	4,5	482	6,2	380
Traubensaft	Traubensaft – Direktsaft	4,9	647	7,7	n. b.
Orangensäfte (n = 4)	Orangensaft aus OSK	4,5	688	10,8	308
	Orangensaft, Direktsaft	4,7	726	10,5	387
	Orangensaft aus Konzentrat	5,0	734	9,8	464
	Orangensaft aus OSK	5,7	767	9,5	507
Apfelsäfte (n = 8)	Apfelsaft naturtrüber Direktsaft	3,8	569	7,3	32
	Apfelsaft naturtrüb	4,5	551	10,9	28
	Streuobst Apfel-Schorle	5,3	577	11,1	28
	Apfel Direktsaft naturtrüb	5,8	780	11,1	262
	Apfelsaft naturtrüb	6,7	788	12,1	18
	Streuobst Apfeldirektsaft naturtrüb	9,0	1366	21,3	9
	Streuobst Apfeldirektsaft naturtrüb	9,0	1033	22,6	10
	Apfelsaft – Direktsaft naturtrüb	10,5	1296	20,8	9
Mischsäfte (n = 3)	Apfel-Mango-Saft Direktsaft	5,8	859	14,9	118
	Apfel-Kirsch-Saft Direktsaft	7,2	923	16,8	39
	Apfel-Holunder Saft	17,1	1912	32,7	10
Johannisbeernektar	Johannisbeernektar schwarz	15,4	1575	12,0	163
Rote Betesäfte (n = 2)	Rote Betesaft naturtrüb, Direktsaft	13,3	1415	17,0	88
	Rote Bete Saft	17,6	2314	24,0	705

zu beachten, dass diese Kosten beim Fotometer um 50 % höher erschienen, wenn man statt der Doppelbestimmung eine Dreifachbestimmung ausführte. Dies würde sich nahezu äquivalent auf den Faktor Arbeit auswirken. Als Lohnansatz werden 30 € Bruttolohn/Stunde angenommen. Die Kostenvorteile des Microplate-Readers liegen auf der Hand. Bei beiden Parametern betragen die Ersparnisse über 50 % der Gesamtkosten, während bei den Faktoreinsatzkosten Gesamtersparnisse von über 70 % auftreten. Nimmt man eine Analysenzahl von 1300 Proben je Geschäftsjahr an, in denen beide Parameter bestimmt werden, so liegt die Einsparung durch den Microplate-Reader bei 2821 €.

3.6 Anwenderbeispiel Bio-Getränke, Produktvergleich

Eine Auswahl von 33 Bio-Getränken wurde analysiert, anschließend wurden die Proben tiefgefroren, drei Wochen lang gelagert und nach dem Auftauen erneut auf TEAC, Gesamtphenole und ORAC untersucht. Tabelle 12 zeigt die Analysenergebnisse vor dem Einfrieren.

Zur besseren Übersicht sind in Abb. 4 die Mittelwerte aller drei Antioxidanzientests für jede Produktgruppe nebeneinander aufgetragen.

Zu erkennen ist die gute Korrelation zwischen dem TEAC-Wert und den Gesamtphenolen. Die Werte des ORAC sind höher als die des TEAC-Tests, ausgenommen ist der Schwarze Johannisbeernektar. In Tabelle 13 sind die Korrelationskoeffizienten der Antioxidanzientests im Überblick dargestellt.

Tab. 13 Korrelationen zwischen den Antioxidanzientests

R ²	TEAC	Gesamtphenole	ORAC
TEAC	1	–	–
Gesamtphenole	0,95	1	–
ORAC	0,81	0,91	1

Tab. 14 Ergebnisse der statistischen Auswertung frisch und nach dem Auftauen

Statistik bei gepaarten Stichproben	TEAC [mmol/l]		Gesamtphenole [mg/l]		ORAC [mmol/l]	
	Termin 1	Termin 2	Termin 1	Termin 2	Termin 1	Termin 2
Mittelwert	5,7	5,7	709	646	10,6	10,8
Standardabweichung	4,7	4,9	537	503	7,4	7,9
Korrelation R ²	0,99		0,99		0,99	
Steigung	1,04		0,93		1,06	
Ordinatenabschnitt	-0,2		-14		-0,4	
Wiederholstandardabweichung	0,41		56,5		0,79	
Wiederholbarkeit	1,15		158,2		2,22	
Relative Standardabweichung [%]	7,22		8,3		7,61	

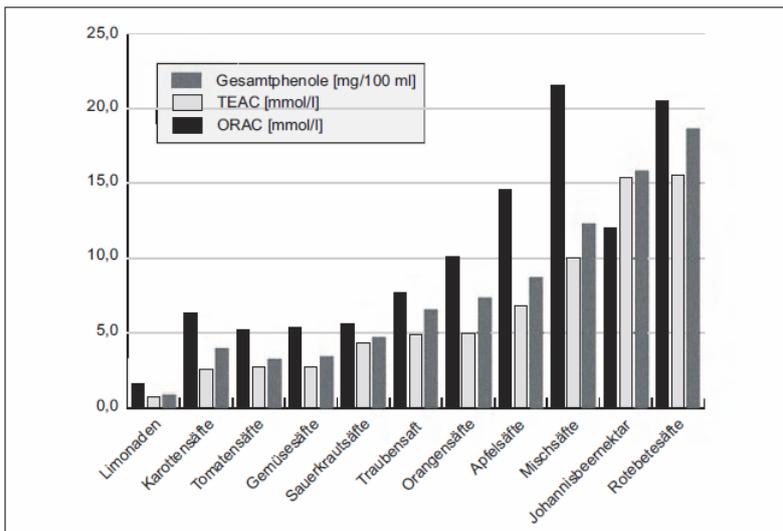


Abb. 4 Vergleich der Mittelwerte der Produktgruppen von TEAC, Gesamtphenolen und ORAC

3.7 Versuch Lagerstabilität

Die Proben wurden im Abstand von drei Wochen analysiert und statistisch ausgewertet. Tabelle 14 zeigt die Ergebnisse bei allen drei untersuchten Parametern.

Die TEAC-Bestimmung erfolgte bei Termin 1 per *Thermo Unicam 500* Fotometer, bei Termin 2 mittels *TECAN* Microplate-Reader. Der t-Test auf signifikante Unterschiede der Mittelwerte der gepaarten Stichproben ergab, dass für den TEAC-Test bei den gleichen Proben zu beiden Terminen keine signifikant unterschiedlichen Messergebnisse erzielt wurden. Die Mittelwerte dieser Stichproben sind vergleichbar, folglich bleibt die antioxidative Kapazität während der Lagerung (drei Wochen bei -18 °C) erhalten. Mittels Analyseautomaten (*Arena*) erfolgte die Bestimmung der Gesamtphenole. Der t-Test zeigt, dass die Mittelwerte ungleich sind. Das bedeutet, dass für die Gesamtphenole signifikant unterschiedliche Messergebnisse erzielt wurden. Die Proben altern bei -18 °C während drei Wochen geringfügig. Es treten vermutlich auch Effekte beim Auftauen ein, die zu einer Abnahme der Gesamtphenole führen. Ein geringer systematischer Fehler von rund -14 mg/l ist messbar. Die Übereinstimmung der Werte zu beiden Zeitpunkten ist dennoch sehr hoch, wie in Abbildung 5 und Tabelle 14 zu erkennen ist.

Die ORAC-Bestimmung erfolgte mittels *TECAN* Microplate-Reader. Für die Stichproben beider Termine ist der Betrag des berechneten t-Wertes auch hier kleiner als der tabellierte t-Wert. Das bedeutet, dass für den ORAC bei den gleichen Proben zu beiden Terminen keine signifikant unterschiedlichen Messergebnisse erzielt wurden. Die Mittelwerte dieser Stichproben sind gleich, die auftretende Abweichung ist rein zufällig. Der ORAC sinkt bei der Lagerung also nicht.

4 Schlussfolgerungen

Die in dieser Arbeit vorgestellten Analysensysteme arbeiten vergleichbar. Durch die Automatisierung im Fall des Microplate Readers ergeben sich insbesondere beim TEAC-Test messtechnische Vorteile, da die Reaktionszeit genauer eingehalten wird. Zusätzlich ergeben sich durch die kürzere Arbeitszeit und den geringeren Verbrauch an Chemikalien betriebswirtschaftliche Vorteile bei Verwendung des Microplate Readers im Vergleich zum Fotometer. Bereits ab vier Proben rechnet sich der Einsatz des Microplate Readers hinsichtlich der Stückkosten je Analyse. Vor allem bei hohem Probenaufkommen ist die Messung mittels Fotometer nicht mehr praktikabel. Ein Microplate-Reader stellt hierbei ein leistungsstarkes System dar, mit dem problemlos ein Vielfaches der täglichen Probenleistung eines Fotometers bearbeitet werden kann. Die Stärken eines Microplate-Readers liegen in der hohen Probenleistung bei gleichzeitig geringen Kosten je Analyse, der Automatisierbarkeit des Analysenablaufes – speziell bei Zeitreaktionen, der automatischen Berechnung der Ergebnisse aus den Rohdaten mit direktem Export der Werte ins Excel-Format sowie dem geringeren Chemikalienbedarf, der das Abfallaufkommen verringert. Nachteile sind die Bildung von Luftblasen in den Kavitäten der Platten, die Entstehung eines Flüssigkeitsfilmes am Injektor, welcher bei jedem Plattenwechsel manuell gereinigt werden muss sowie die erschwerte Innenreinigung des Gerätes. Um externe Einflüsse zu kompensie-

261A Originalarbeiten

Testsysteme zur Messung von antioxidativen Inhaltsstoffen: Anwendung, Möglichkeiten und Grenzen – ein Methodenvergleich

M. Josuttis, D. Hofmann, C.-D. Patz und H. Dietrich

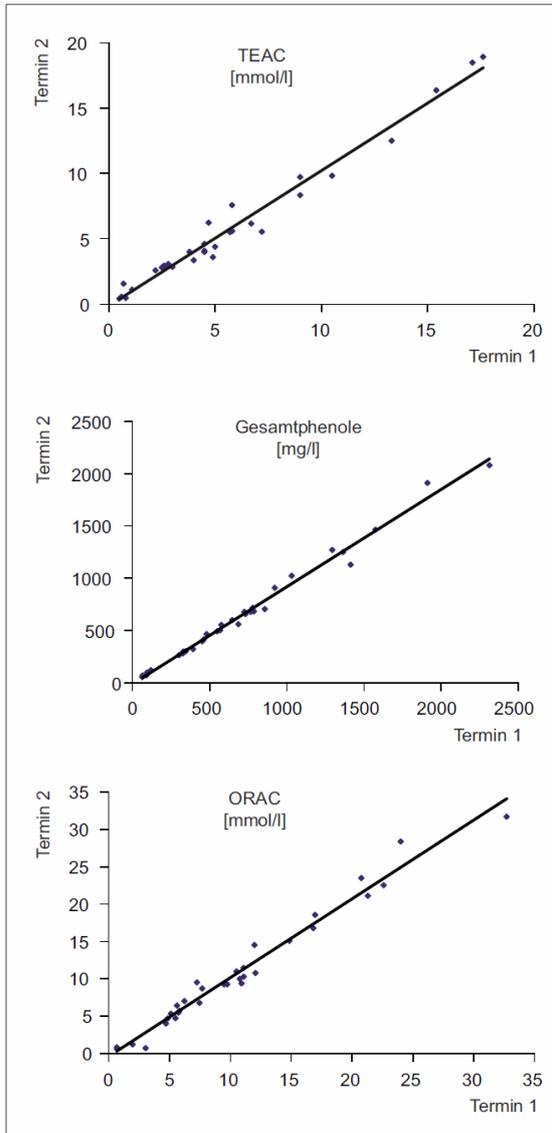


Abb. 5 Streudiagramme der Tests vor (T1) und nach Lagerung (T2: 3 Wochen bei -18 °C)

262 Originalarbeiten ◀◀

ren, müssen Proben und Standards auf derselben Platte gemessen werden. Bei der Analyse der Gesamtphenole mit der hier verwendeten Methode kann es aufgrund der Dichte des Natriumcarbonates zu unvollständiger Durchmischung in den Kavitäten kommen. Auch die Schüttelfunktion des Microplate Readers reicht nicht aus, um die Reagenzien vollständig zu durchmischen.

Die Tests TEAC und Gesamtphenole zeigen über alle untersuchten Produktgruppen die höchste Korrelation untereinander. Es scheint daher nicht erforderlich, beide Tests parallel anzuwenden, da für die hier untersuchten Proben keine zusätzlichen Informationen gewonnen werden.

Das Einfrieren von Proben über drei Wochen zeigte keine Veränderung der antioxidativen Kapazität und ist somit geeignet, Proben vor der Analyse aufzubewahren. Alle drei verwendeten Antioxidanzientests eignen sich daher als schnelle und einfache Screeningmethode zur Bestimmung des antioxidativen Potenzials.

Literatur

- *Benzie IFF, Strain JJ*: The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Anal Biochem* **239**, 70–76 (1996).
- *Bors W, Michel C, Saran M*: Inhibition of the bleaching of the carotenoid crocin a rapid test for quantifying antioxidant activity. *BBA-Lipids Lipid Metabol* **796**, 312–319 (1984).
- *Cao G, Alessio HM, Cutler RG*: Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radical Biol Med* **14**, 303–311 (1993).
- *Cieslik E, Greda A, Adamus W*: Contents of polyphenols in fruit and vegetables. *Food Chem* **94**, 135–142 (2006).
- *Davalos A, Gomez-Cordoves C, Bartolome B*: Extending Applicability of the Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC-Fluorescein) Assay. *J Agric Food Chem* **52**, 48–54 (2004).
- *Del Rio D* et al.: Polyphenols and health. What compounds are involved? *Nutr Metab Cardiovas Dis* **20**, 1–6 (2010).
- *Ghiselli A* et al.: A fluorescence-based method for measuring total plasma antioxidant capability. *Free Radical Biol Med* **18**, 29–36 (1995).
- *Halliwel B*: Antioxidants in Human Health and Disease. *Annu Rev Nutr* **16**, 33–50 (1996).
- *Huang D, Ou B, Prior RL*: The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric Food Chem* **53**, 1841–1856 (2005).
- *Huang D* et al.: Development and Validation of Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay for Lipophilic Antioxidants Using Randomly Methylated β -Cyclodextrin as the Solubility Enhancer. *J Agric Food Chem* **50**, 1815–1821 (2002a).
- *Huang D* et al.: High-Throughput Assay of Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) Using a Multichannel Liquid Handling System Coupled with a Microplate Fluorescence Reader in 96-Well Format. *J Agric Food Chem* **50**, 4437–4444 (2002b).
- *Miller NJ* et al.: A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci* **84**, 407–412 (1993).
- MEBAK: Methodensammlung der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission. Selbstverlag der MEBAK. Freising-Weihenstephan (2002).
- *Ou B, Hampsch-Woodill M, Prior RL*: Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *J Agric Food Chem* **49**, 4619–4626 (2001).
- *Ou B* et al.: Novel Fluorometric Assay for Hydroxyl Radical Prevention Capacity Using Fluorescein as the Probe. *J Agric Food Chem* **50**, 2772–2777 (2002).
- *Prior RL, Wu X, Schaich K*: Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *J Agric Food Chem* **53**, 4290–4302 (2005).
- *Re R* et al.: Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol Med* **26**, 1231–1237 (1999).
- *Rodrigo R, Bosco C*: Oxidative stress and protective effects of polyphenols: Comparative studies in human and rodent kidney. A review. *Comp Biochem Physiol PT C* **142**, 317–327 (2003).
- *Scalbert A* et al.: Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health. *Biomed Pharmacotherapy* **56**, 276–282 (2002).
- *Singleton VL, Rossi JA*: Colorimetry of total phenolics with Phosphomolybdic acid reagents. *Am J Enol Vitic* **37**, 144–158 (1965).
- *Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM*: Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In: *Lester P* (ed): *Methods in Enzymology. Oxidants and Antioxidants Part A*. Academic Press (1999).
- *Spencer CM* et al.: Polyphenol complexation – some thoughts and observations. *Phytochemistry* **27**, 2397–2409 (1988).
- *Stoclet JC* et al.: Vascular protection by dietary polyphenols. *Eur J Pharmacol* **500**, 299–313 (2004).
- *Watzl B, Leitzmann C*: *Bioaktive Substanzen in Lebensmitteln*. Hippokrates Verlag GmbH, Stuttgart (1999).
- *Wollgast J, Anklam E*: Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health? *Food Res Int* **33**, 449–459 (2000).
- *Zulueta A, Esteve MJ, Frígola A*: ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chem* **114**, 310–316 (2009).

Die kompletten Beiträge aus „Angewandte Wissenschaft
Originalarbeiten exklusiv für Sie vorgestellt“
finden Sie auf www.dlr-online.de → **DLR Plus**
Passwort: Spargelsuppe

4

Effects of air and soil temperatures on the chemical composition of fruit and agronomic performance in strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.)

Original-Publikation:

Dieses Kapitel erschien im
Journal of Horticultural Science & Biotechnology (2011), 86
S. 415–421
von Melanie Josuttis, Helmut Dietrich, Claus-Dieter Patz und Erika Krüger

Reprinted with permission

Eigene Leistung:
Hauptverantwortlichkeit in Planung und Betreuung des Gewächshausversuches, chemische Analyse und Datenauswertung,
schriftliche Abfassung der Publikation

Effects of air and soil temperatures on the chemical composition of fruit and agronomic performance in strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.)

By M. JOSUTTIS^{1,3*}, H. DIETRICH², C.-D. PATZ² and E. KRÜGER³

¹Hochschule RheinMain, University of Applied Sciences, Von-Lade-Str. 1, 65366 Geisenheim, Germany

²Department of Wine Analysis and Beverage Research, Geisenheim Research Center, Von-Lade-Str. 1, 65366 Geisenheim, Germany

³Department of Pomology, Geisenheim Research Center, Von-Lade-Str. 1, 65366 Geisenheim, Germany

(e-mail: m.josuttis@fa-gm.de)

(Accepted 30 March 2011)

SUMMARY

The effects of different air and soil temperatures on the levels of bioactive components in strawberry fruit (cv. Elsanta) were studied under Winter greenhouse conditions, as were agronomic parameters such as fruit yield, fruit size, and leaf area. The following three temperature Treatments were applied: A, cool (day/night: 16°C/12°C); B, warm (day/night: 22°C/16°C); and C, warm with soil heating to 26°C during the day. Increasing the air temperature in the greenhouse, or the soil temperature, decreased the average fruit weight. Fruit quality attributes such as dry matter and soluble solids contents, and titratable acidity, were not significantly influenced by the different treatments. Strawberries grown in the cool environment (Treatment A) had a lower anti-oxidant capacity, in terms of their total phenolics (TP) content, trolox equivalent anti-oxidant capacity (TEAC), and oxygen radical absorbance capacity (ORAC), than strawberries produced in the warmer environment (Treatment B). This was due to lower concentrations of total monomeric anthocyanins, total pro-anthocyanidins, total ellagitannins, and kaempferol 3-glucoside-malonate. On the other hand, ascorbic acid concentrations in fruit grown in the cooler environment were higher compared to fruit grown in the warmer environment. An increase in soil temperature in the warmer environment (Treatment C) did not result in any additional accumulation of anthocyanins, or any other phenolics in the fruit, except for *p*-coumaroyl glucose. However, the concentrations of pro-anthocyanidins were even lower in fruit grown with heated soil. These results showed that air and soil temperatures have a significant influence on the phenolics composition of strawberries.

Berry fruit contain a large number of phytochemicals with potentially beneficial effects on human health (Määttä-Riihinen *et al.*, 2004; Seeram *et al.*, 2008). The best known are phenolic compounds, although their true natural function is to contribute to plant resistance against environmental stresses (Treutter, 2005). Strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) is one of the most popular berry fruit and is produced in almost all parts of Europe. The fruit contain a diversity of phenolic components such as ellagitannins, pro-anthocyanidins, *p*-coumaroyl glucose as the main phenolic acid, flavonols (e.g., quercetins and kaempferols), and pelargonidin 3-glucoside as the predominant anthocyanin (Aaby *et al.*, 2007). The concentrations of these bioactive compounds in strawberry, including ascorbic acid, are largely dependent on variety (Capocasa *et al.*, 2008). In addition, the effects of environmental conditions on the relative contents of health-promoting substances have been studied extensively (Anttonen *et al.*, 2006; Atkinson *et al.*, 2006; Josuttis *et al.*, 2010; Treutter, 2010; Wang *et al.*, 2002). Two factors which change with climate and cultivation technique (e.g., tunnel cultivation vs. hill plasticulture) are air and soil temperatures. Not only is

the biochemical composition of fruit affected by changes in temperature (Wang and Camp, 2000; Wang and Zheng, 2001), but key agronomic parameters such as leaf area, fruit yield, and fruit size are also influenced (Crespo *et al.*, 2010; LeMiére *et al.*, 1998) and can interact with the biosynthesis of phenolic compounds.

To evaluate the influence of growth temperature on the nutritional value of strawberry fruit, we compared warm and cold growing conditions in a greenhouse. In addition, the soil temperature was increased, under the warm environment, in order to simulate growing conditions during hill plasticulture with a black plastic mulch.

MATERIALS AND METHODS

Plant material and cultivation

The experiment was carried out in a greenhouse at the Geisenheim Research Center, Germany. Cold-stored strawberry tray plants (*Fragaria* × *ananassa* Duch. cv. Elsanta) were set in peat bags, each 1.0 m in length, with eight plants per bag (BVB Substrates, De Lier, The Netherlands) in mid-October 2009. All plants (n = 372) were grown at day/night temperatures of 22°C/16°C until they flowered 1 month later. At this time, three different

*Author for correspondence.

temperature Treatments were applied using two compartments in the greenhouse:

Treatment A, a cool environment (day/night temperatures of 16°C/10°C) in greenhouse compartment 1;

Treatment B, a warm environment (day/night temperatures of 22°C/16°C) in greenhouse compartment 2;

Treatment C, a warm environment as in Treatment B, but with increased soil temperature (day/night air temperatures of 22°C/16°C; plus soil at 26°C from 05.00 – 18.00 h) in greenhouse compartment 2.

From the start of the trial, the peat bags in Treatment C were heated to 26°C between 05.00 – 18.00 h (Figure 1) using a floor heater (Hotbox Heizmatte; Bahrs Technik GmbH & Co., KG, Brügggen, Germany) and insulated with polystyrene boards to avoid temperature exchanges with the ambient air. For each Treatment, three replications, each with 48 plants, were used per plot. The day-length was 14 h throughout the trial and, when the photosynthetically-active radiation (PAR) was lower than 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, supplementary lighting was applied using high pressure sodium lamps (Philips SON-T 400W) to a measured intensity of approx. 50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ in the canopy of the plants. During the experiment, air temperatures, soil temperatures (at 5 cm depth), and PAR were measured every 10 min and collected using a data-logger (Figure 1). Automatic fertigation with a nutrient solution (118 mg l⁻¹ N, 45 mg l⁻¹ P, and 210 mg l⁻¹ K) having electrical conductivities of 1.50 mS cm⁻¹ and 1.75 mS cm⁻¹ before and after flowering, respectively, was applied daily. Bumblebees were used for pollination, and fruit were harvested each week. Fruit yields and fruit weights were recorded. For each sample, a minimum of 25 healthy, non-damaged fruit per replication per treatment were collected in the second and third weeks of harvest.

The total leaf areas of five complete plants per replication per Treatment were measured directly after

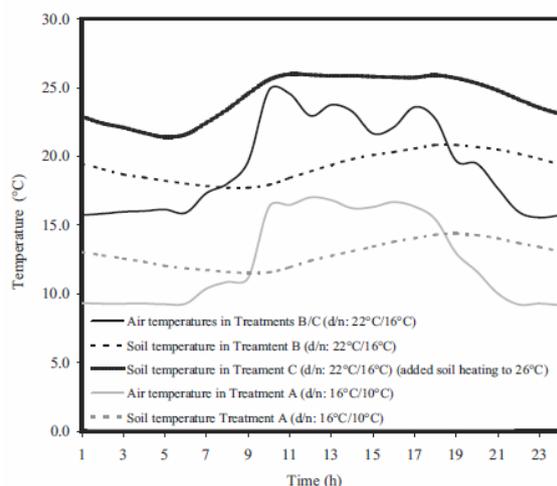


FIG. 1
Average (24 h) daily air and soil temperature profiles for the three different Treatments (A–C) applied to 'Elsanta' strawberry plants in two greenhouse compartments. (d/n = day/night).

the harvest period using a leaf area meter (LI-3100C; LI-COR, Lincoln, NE, USA).

Chemical analyses

Sample preparation: Each fruit sample included a minimum of 25 strawberries. Fruit were quartered on the day of sampling. Two quarters were immediately frozen in liquid nitrogen, stored at –28°C, then later ground to a powder using a laboratory mill (IKA A 11 Basic; IKA®-Werke GmbH & Co., KG, Staufen, Germany). The other two quarters were homogenised using a hand-blender and the resulting purée was used to determine the soluble solids content (SSC), dry matter (DM) content, and titratable acidity (TA), as reported by Josuttis *et al.* (2010). Each replicate (n = 3) included 48 plants from each Treatment and was analysed separately on two independent sampling dates: Treatments B and C in December 2009, and Treatment A in January 2010.

Ascorbic acid (AA), total monomeric anthocyanins (TMA), and total phenolics (TP) contents, trolox equivalent anti-oxidant capacity (TEAC), oxygen radical absorbance capacity (ORAC), and total monomeric pro-anthocyanidin (PAC) content: Samples were analysed as described previously (Josuttis *et al.*, 2010). In brief, 5.0 g of frozen strawberry powder from each sample was extracted twice with 2% (w/v) oxalic acid to determine its AA concentration by iodometric titration.

For all other parameters, 5.0 g of strawberry powder was extracted twice with 10 ml 80% (v/v) methanol and made-up to a final volume of 25 ml. TMA concentrations were determined by the pH-differential method (Giusti and Wrolstad, 2001) and the results were expressed as μg pelargonidin 3-glucoside g⁻¹ fresh weight (FW) fruit, using a molar absorption coefficient of 15,600 l mol⁻¹ cm⁻¹.

Anti-oxidant capacity (AC) was analysed using three different assays: TP contents were determined by the Folin-Ciocalteu method (Singleton *et al.*, 1999) using gallic acid (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) equivalents (GAE) as the reference compound and were expressed in μg GAE g⁻¹ FW. The TEAC assay (Re *et al.*, 1999) was carried out using ABTS {[2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)]; Sigma-Aldrich}. The ABTS radical cation was generated overnight with potassium persulphate to a final absorbance of 0.800 ± 0.050 at 734 nm. Anti-oxidant capacity was expressed in μmol Trolox (Sigma-Aldrich) equivalents (TE) g⁻¹ FW. The ORAC assay was applied according to Huang *et al.* (2002) using fluorescein, a black 96-well plate, and a microplate reader (Infinite M200; Tecan, Crailsheim, Germany). Fluorescence was recorded every minute for 90 min at 37°C, with an excitation wavelength of 485 nm and an emission wavelength of 520 nm. ORAC values were calculated by linear regression of the area under the kinetic curve using Magellan software (Tecan) and expressed as $\mu\text{mol TE g}^{-1}$ FW.

PACs were analysed colorimetrically using 0.1% (w/v) 4-dimethylaminocinnamaldehyde (DMAC; Agros Organics, Geel, Belgium) dissolved in 50% (v/v) ethanol acidified with 3 M hydrochloric acid according to Prior *et al.* (2010). A diluted sample, blank, or 1 – 20 mg l⁻¹ catechin (Carl Roth GmbH & Co., KG, Karlsruhe, Germany) standards were mixed in a 1:4 (v/v) ratio with

TABLE I
Effects of air and soil temperatures on agronomic parameters in strawberry

Treatment	Day/night temperatures (°C)	Single leaf area (cm ²)	Total leaf area (cm ² /plant)	Leaf area/ fruit yield ratio (cm ² g ⁻¹)	Fruit yield (g/plant)	Mean fruit weight (g)
A	16/10	47.4 a	2,481 a	15.3 a	162 a	12.6 a
B	22/16	44.0 a	1,378 c	12.0 b	115 b	9.7 b
C	22/16 (soil 26)	41.7 a	1,814 b	17.7 a	102 b	8.1 c

Mean values (n = 3) followed by a different lower-case letter in each column were significantly different at $P \leq 0.05$ by Tukey's test.

the DMAC solution and the absorbance was measured at 640 nm after 30 min. The results were expressed as μg catechin equivalents g^{-1} FW.

Analyses of phenolic compounds and ellagitannins after hydrolysis: High performance liquid chromatography using a photodiode array detector (HPLC-PDAD) was performed as previously reported (Josuttis *et al.*, 2010). Phenolics profiles were detected in the methanolic extracts described above. The main peaks were analysed and calculated using ellagic acid, coumaric acid (Sigma-Aldrich), cyanidin 3-O-glucoside, kaempferol 3-O-glucuronide, pelargonidin 3-O-glucoside (Extrasynthèse, Genay Cedex, France), and quercetin 3-D-glucuronide (Carbosynth, Compton, UK) as standards. Ellagitannins were analysed, after hydrolysis, as ellagic acid (EA) equivalents according to Häkkinen *et al.* (2000) because no standards were available. The amount of EA was calculated by its absorbance at 255 nm and expressed, as for the other phenolics, in μg g^{-1} FW.

Statistical analysis

All data were analysed statistically by analysis of variance using SPSS (Version 17; SPSS Inc., Munich, Germany). Mean values (n = 6) of all parameters on the two sampling dates were compared using Tukey's test. Differences at $P \leq 0.05$ were considered significant.

RESULTS AND DISCUSSION

Plant growth and agronomic performance

The difference in mean air temperature between the two greenhouse compartments was 6°C, and the temperature of the soil heated in Treatment C was, on average, increased by 5.6°C compared to Treatment B (Figure 1). Clearly, strawberry plant performance, fruit yield, and fruit size were all influenced by these temperature changes (Table I; Figure 2).

Leaf area was greatest in the cool environment of Treatment A. The main reason for this was the delay in harvest and 5-week-longer period of vegetative growth. The heated soil in Treatment C resulted in an increased leaf area compared to Treatment B, with ambient temperature soil. These differences were caused by an increased number of leaves, and not by the enhancement of single leaf areas (Table I). This result confirmed studies by Le Mière *et al.* (1998) who reported increased leaf areas with decreasing temperature due to the longer time between planting and first harvest. Moreover, the rate of leaf production increased with a higher temperature. This explains the higher leaf areas observed in our study of plants in Treatment C with soil heating, where the first harvest date was comparable to that in Treatment B without soil heating. Thus, the conclusions in the study by Le Mière *et al.* (1998) can be extended to changes in soil temperature. The start of harvest was

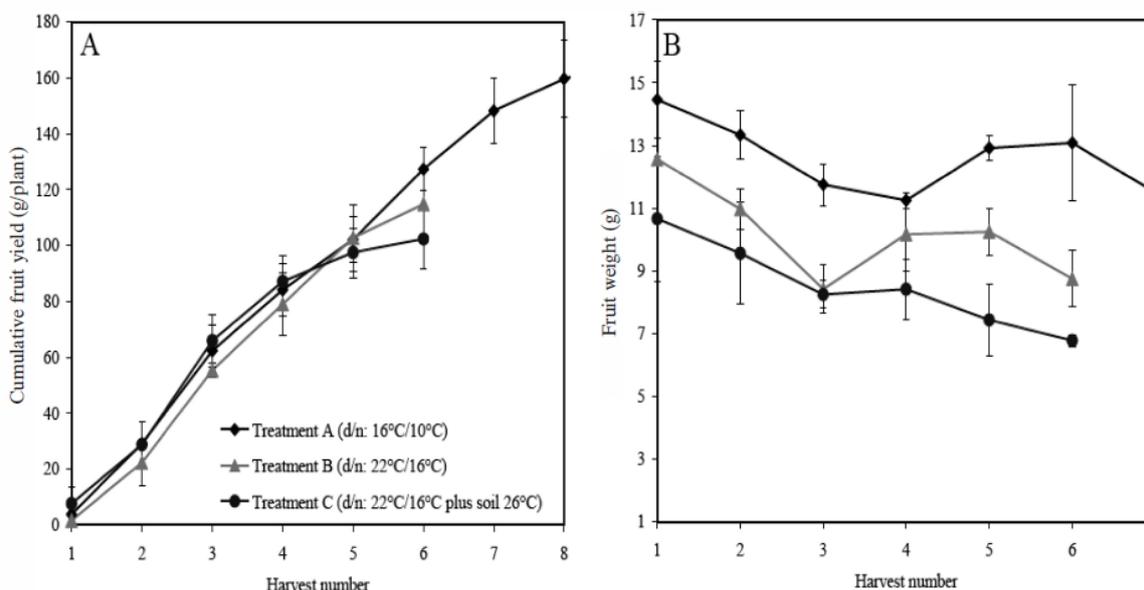


FIG. 2

Cumulative fruit yields over all harvests (Panel A) and marketable fruit weight per plant (Panel B) for each harvest. Each value is a mean \pm SD (n = 3). Treatment A (low air temperature) permitted two additional fruit harvests (Panel A).

TABLE II
Effects of air and soil temperatures on DM, SSC, TA, TMA, TP, TEAC, ORAC, and PAC* values in strawberry fruit sampled in 2009 and in 2010

Treatment	Day/night temperatures (°C)	Week of harvest	Fruit fresh weight (g)	DM (%)	SSC (%)	TA (%)	AA (µg g ⁻¹ FW)	TMA (µg g ⁻¹ FW)	TP (µg g ⁻¹ FW)	TEAC (mmol g ⁻¹ FW)	ORAC (mmol g ⁻¹ FW)	PAC (µg g ⁻¹ FW)
A	16/10	3 (2010) 4 (2010)	14.4 11.7	8.9 7.8	6.2 7.0	0.94 0.85	842 738	336 391	1,397 1,530	16.2 16.9	27.1 26.7	198 221
Mean			13.0 b [†]	8.4 a	6.6 a	0.9 a	790 a	364 b	1,464 c	16.6 c	26.9 b	210 b
B	22/16	50 (2009) 51 (2009)	12.3 8.7	8.2 8.3	6.1 6.0	1.05 0.90	721 667	593 650	1,739 1,692	19.6 21.2	33.4 35.4	239 226
Mean			10.5a	8.3 a	6.1 a	0.98 a	694 b	621 a	1,716 a	20.4 a	34.4 a	232 a
C	22/16 (soil 26)	50 (2009) 51 (2009)	9.7 8.2	8.4 8.7	6.2 6.5	0.92 0.86	673 683	602 649	1,546 1,646	18.0 18.9	35.1 34.8	183 201
Mean			9.0 a	8.6 a	6.4 a	0.89 a	678 b	625 a	1,596 b	18.5 b	34.9 a	192 b

[†]Mean values (n = 6) followed by a different lower-case letter in each column were significantly different at $P \leq 0.05$ by Tukey's test.

*DM, dry matter content; SSC, soluble solids content; TA, titratable acidity; TMA, total monomeric anthocyanins; TP, total phenolics, expressed as gallic acid equivalents; TEAC, trolox equivalent anti-oxidant capacity, expressed as trolox equivalents; ORAC, oxygen radical absorbance capacity, expressed as trolox equivalents; PAC, pro-anthocyanidins content, expressed as catechin equivalents.

influenced mainly by air temperature. Further increases in soil temperature did not affect the progress of harvest. Thus, in greenhouse compartment 2, harvest started 9 weeks after planting in both Treatment B and Treatment C. Although the plants in Treatment A had been grown until flowering at the same temperature as the plants in the warmer compartment 2, the harvest in compartment 1 started 5 weeks later than in Treatments B and C. The cumulative fruit yields for each Treatment at each harvest were similar (Figure 2A). However, two additional harvests were recorded for Treatment A, which resulted in a higher total fruit yield per plant (Table I). Treatments B and C, in compartment 2 with or without soil heating, showed no difference in total fruit yield.

Among all Treatments, average fruit weights were significantly different. Treatment A resulted in the largest fruit, followed by Treatment B. The smallest fruit were observed under the heated soil conditions of Treatment C (Figure 2B; Table I). Consequently, higher soil or air temperatures decreased mean fruit size. The total number of fruit per plant (calculated by total fruit yield divided by mean fruit weight) was 12, and was not affected by temperature treatment. In contrast, Le Mière *et al.* (1998) showed a negative correlation between fruit number and growth temperature. However, in Le Mière *et al.* (1998), the different temperature treatments were applied after only a brief period (3 d) for plant establishment, while, in our trial, the Treatments were applied after 4 weeks growth under the same (warm) conditions, when the inflorescences had already emerged.

Fruit quality attributes: dry matter (DM) content, soluble solids content (SSC), titratable acidity (TA), and ascorbic acid (AA) content

Mean DM, SSC, and TA values were not significantly different between all three Treatments (Table II). Consequently, the above-mentioned differences in average fruit weight (Table I), and in the fruit weight of each sample (Table II), did not result in a dilution effect; thus, calculations on a DM basis were not necessary. In contrast, Wang and Camp (2000) reported that the highest SSC and TA values were found in fruit grown under the lowest temperature. These different conclusions may be due to genotypic variation, different methods of temperature application, or fertigation effects. Nevertheless, strawberry fruit in Treatment A showed the greatest variation in DM content between the two sampling dates. In contrast, recent studies on raspberry fruit showed that DM, SSC, and TA values increased with increasing temperature and decreasing berry weight (Remberg *et al.*, 2010). Indeed, AA concentrations were enhanced in fruit from Treatment A (Table II), confirming the above-mentioned studies (Remberg *et al.*, 2010; Wang and Camp, 2000). This observation supported the positive effect of cooler conditions on AA concentration. However, an increased soil temperature did not affect the concentration of AA, which agreed with Moor *et al.* (2005) who found no consistent effect of using a black polyethylene mulch to increase soil temperature compared to a straw mulch. Moreover, Atkinson *et al.* (2006) observed no direct interaction between soil temperature and AA

TABLE III
Effects of air and soil temperatures on the concentrations of individual phenolic compounds

Treatment	Day/night temperatures (°C)	Week of harvest	PEL 3-GLU* ($\mu\text{g g}^{-1}$ FW)	PEL derivative* ($\mu\text{g g}^{-1}$ FW)	CYA 3-GLU- MAL* ($\mu\text{g g}^{-1}$ FW)	PEL 3-GLU- MAL* ($\mu\text{g g}^{-1}$ FW)	EA after hydrolysis ^b ($\mu\text{g g}^{-1}$ FW)	EA derivative ^b ($\mu\text{g g}^{-1}$ FW)	p-COUM- GLU ^c ($\mu\text{g g}^{-1}$ FW)	QUER 3- GLU ^c ($\mu\text{g g}^{-1}$ FW)	KAE 3-GLC plus KAE 3-GLU ^d ($\mu\text{g g}^{-1}$ FW)	KAE 3-GLU- MAL ^d ($\mu\text{g g}^{-1}$ FW)
A	16/10	3 (2010) 4 (2010)	241.0 232.3	0.6 0.7	0.2 0.2	41.4 45.7	204.3 210.7	12.3 12.6	10.1 9.1	7.7 7.1	5.9 4.8	8.3 7.8
Mean			236.7 b ^f	0.7 b	0.2 b	43.6 b	207.5 b	12.5 a	9.6 b	7.4 a	5.4 a	8.0 b
B	22/16	50 (2009) 51 (2009)	312.3 394.7	2.4 3.5	0.8 1.2	105.1 95.3	264.3 271.3	10.8 13.7	9.0 10.1	7.4 7.8	5.8 7.1	13.3 16.7
Mean			353.5 a	3.0 a	1.0 a	100.2 a	267.8 a	12.2 a	9.5 b	7.6 a	6.5 a	15.0 a
C	22/16 (soil 26)	50 (2009) 51 (2009)	362.4 304.6	3.7 2.6	1.2 1.2	129.0 108.2	256.7 318.0	13.3 11.3	12.9 10.8	8.5 7.2	7.3 5.4	16.1 13.1
Mean			333.5 a	3.2 a	1.2 a	118.6 a	287.3 a	12.3 a	11.9 a	7.9 a	6.3 a	14.6 a

All data are expressed as means (n = 3). Mean values within the same column followed by a different lower-case letter were significantly different at $P \leq 0.05$. PEL, pelargonidin; GLU, glucoside; CYA, cyanidin; MAL, glucoside-malonate; EA, ellagic acid; p-COUM GLU, p-coumaroyl glucoside; KAE, kaempferol; GLC, glucuronide. Data are expressed as equivalents of *pelargonidin 3-glucoside, cyanidin 3-glucoside, ^bellagic acid, ^cquercetin 3-glucuronide, and ^dkaempferol 3-glucuronide.

concentration. In contrast, Wang *et al.* (2002) found an increased AA concentration in fruit produced using hill plasticulture compared to a matted-row system.

Effects on total monomeric anthocyanins (TMA), anti-oxidant capacity (AC), and total monomeric pro-anthocyanidin (PAC) contents

TMA concentrations were approx. 40% higher in strawberry fruit harvested from Treatment B and Treatment C compared to those from Treatment A. Increased anthocyanin concentrations in berry fruit under higher growing temperatures were also observed in raspberry (Remberg *et al.*, 2010) and in strawberry (Wang and Zheng, 2001). No significant differences were observed between fruit from Treatments B and C, consequently soil heating had no effect. This observation contradicts the results of investigations by Anttonen *et al.* (2006), Moor *et al.* (2005), Wang *et al.* (2002), and Wang and Millner (2009), where higher anthocyanin concentrations were observed when using a dark plastic mulch. However, soil temperatures were not measured in these studies and different cultivars were used. Direct comparisons are therefore not possible.

Fruit from Treatment B had the highest TP and TEAC values, followed by fruit from Treatment C. The lowest TP and TEAC values were obtained in fruit from Treatment A (Table II). In contrast, ORAC values were not different between fruit from Treatment B and Treatment C, whereas fruit from Treatment A had the lowest ORAC values.

In the case of PAC, fruit from Treatment B had the highest values, followed by Treatment A, which was not significantly different from fruit in Treatment C. These results indicate that the contribution of PAC to ORAC values was less than to TEAC values or TP contents.

Temperature effects on the major individual phenolics

HPLC analysis confirmed the results of the TMA analysis. All anthocyanin levels decreased in fruit from Treatment A (Table III). Interestingly, levels of pelargonidin 3-glucoside-malonate were more strongly influenced by temperature than pelargonidin 3-glucoside. Pelargonidin 3-glucoside-malonate levels decreased by 56% in Treatment A compared to fruit from Treatments B and C, whereas pelargonidin 3-glucoside contents decreased by only 32% (Table III). Fruit from Treatment B and Treatment C did not differ in their concentrations of individual anthocyanins. This observation contradicts Anttonen *et al.* (2006) and Wang *et al.* (2002), who found differences in individual anthocyanin contents under different cultivation conditions, as mentioned above for TMA contents. Nevertheless, the concentration of pelargonidin 3-glucoside-malonate tended to increase in fruit from Treatment C compared to fruit from Treatment B, which agrees with the results of Wang and Zheng (2001) and Wang *et al.* (2002).

In addition, the concentration of ellagic acid, from the hydrolysis of high molecular weight ellagitannins, was lowest in fruit from Treatment A, whereas levels in fruit from Treatments B and C were the same and higher (Table III). However, fruit from plants in Treatment C had a tendency towards increased ellagitannin levels (Table III), although the concentration of this free ellagic

acid derivative was not significantly affected by temperature. Remberg *et al.* (2010) found a positive effect of temperature on the concentrations of ellagitannins and free ellagic acid derivatives in raspberry fruit, which agrees with our results. Nevertheless, co-elution during HPLC analysis, or lost information due to hydrolysis, requires further research to obtain more details on the chemical structure.

Concentrations of *p*-coumaroyl glucose were enhanced in fruit from Treatment C compared to fruit from Treatment B and Treatment A. Concentrations of the flavonols, quercetin 3-glucuronide and kaempferol 3-glucuronide/kaempferol 3-glucoside were not affected, whereas Wang *et al.* (2001) found a positive relationship between temperature and the concentrations of these flavonols. The latter conclusion was not completely confirmed by more recent studies (Wang and Millner, 2009), especially for the concentrations of quercetins and kaempferols. Kaempferol 3-glucoside-malonate levels decreased in fruit from Treatment A, but an increased soil temperature (Treatment C) did not affect this flavonol. Wang *et al.* (2001) also confirmed that kaempferol derivatives were not strongly affected by temperature changes. In view of the fact that ultraviolet-B radiation is almost absent in a greenhouse (Dannehl, 2010), the concentrations of quercetin 3-glucuronide in fruit were relatively low, and cyanidin 3-glucoside was not detectable, as recently shown by Josuttis *et al.* (2010). Such low concentrations (or absence) could mask putative temperature effects.

In conclusion, the relative levels of these bioactive substances are dependent on the growth temperature of the fruit (Remberg *et al.*, 2010; Wang and Camp, 2000; Wang and Zheng, 2001). All measured parameters were relatively similar on both sampling dates under greenhouse conditions (Table II; Table III), which is generally not the case under open-field conditions (Josuttis *et al.*, 2009). Nevertheless, fruit size was enhanced by a lower temperature. Therefore the fruit surface:volume ratio was not the same for all Treatments. Most phenolics are located in the outer layer of strawberry fruit (Josuttis *et al.*, 2010), therefore the adverse effects of Treatment A were due, in part, to its effect on fruit size. The contributions of fruit yield, leaf area, or the leaf area: fruit yield ratio, to the concentrations of bioactives in strawberry fruit appeared less important, in agreement with Crespo *et al.* (2010).

However, in practice, temperature is not the only important growth parameter. Moreover, it is possible that day-length and light intensity can interact with temperature to have synergistic or repressive effects; however, detailed investigations on this topic are scarce (Jaakola and Hohtola, 2010; Martínez-Ballesta *et al.*, 2008).

In the context of applying different soil temperatures, our results are not fully applicable to hill plasticulture. In our case, the soil was heated from below while, in hill plasticulture, the soil is heated from above. In addition, plasticulture hills are not insulated like the plastic bags in our trial, and the air temperature at plant height could also be increased compared to straw mulch.

Other possible factors include light reflectance or root morphology. Compared to bare soil, the greatest temperature differences when applying black hill plasticulture were 3.5° – 6.2°C higher at 5 cm depth. At 10 cm depth, the temperature difference was only 2°C (Himelrick *et al.*, 1993). Twenty-five to 50% of roots were located at a depth of 8 cm or less, approx. 25% – 40% were at a depth of 8 – 15 cm (Hancock, 1999), and the remaining roots were deeper. Thus, most roots were in cooler areas; whereas, in our study, grow-bags 10 cm in height were used, providing a more homogeneous temperature and more even root distribution.

During previous studies on hill plasticulture (Anttonen *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2002; Wang and Millner, 2009), the results were expressed on a FW basis, and the SSC values of the treatments were different. Thus fruit produced on a black polyethylene film had higher DM contents, and previous results calculated on a DM basis would therefore be less affected by temperature and more comparable to our observations. Furthermore, PAC and ellagitannin contents were rarely reported in earlier studies (Anttonen *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2002; Wang and Millner, 2009). Pre-harvest temperature effects have an important role during the biosynthesis of tannins and anthocyanins, as observed in raspberry fruit (Remberg *et al.*, 2010) and further research on this topic is necessary.

We acknowledge the Department of Ornamental Crops for providing two greenhouse compartments, and Manfred Fischer for controlling the lighting and temperature. We thank the Department of Pomology for excellent assistance in these experiments.

REFERENCES

- AABY, K., EKEBERG, D. and SKREDE, G. (2007). Characterization of phenolic compounds in strawberry (*Fragaria × ananassa*) fruits by different HPLC detectors and contribution of individual compounds to total antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**, 4395–4406.
- ANTTONEN, M. J., HOPPULA, K. I., NESTBY, R., VERHEUL, M. J. and KARJALAINEN, R. O. (2006). Influence of fertilization, mulch color, early forcing, fruit order, planting date, shading, growing environment, and genotype on the contents of selected phenolics in strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**, 2614–2620.
- ATKINSON, C. J., DODDS, P. A. A., FORD, Y. Y., LE MIERE, J., TAYLOR, J. M., BLAKE, P. S. and PAUL, N. (2006). Effects of cultivar, fruit number and reflected photosynthetically active radiation on *Fragaria × ananassa* productivity and fruit ellagic acid and ascorbic acid concentrations. *Annals of Botany*, **97**, 429–441.
- CAPOCASA, F., SCALZO, J., MEZZETTI, B. and BATTINO, M. (2008). Combining quality and antioxidant attributes in the strawberry: The role of genotype. *Food Chemistry*, **111**, 872–878.
- CRESPO, P., BORDONABA, J. G., TERRY, L. A. and CARLEN, C. (2010). Characterisation of major taste and health-related compounds of four strawberry genotypes grown at different Swiss production sites. *Food Chemistry*, **122**, 16–24.

- DANNEHL, D. (2010). *Gewächshaus-Eindeckmaterialien: Die Bedeutung der Lichtquantität und Lichtqualität in Tropenhäusern*. VDM Verlag Dr. Müller GmbH & Co. KG, Saarbrücken, Germany. 63–64.
- GIUSTI, M. M. and WROLSTAD, R. E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. In: *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. (Wrolstad, R. E., Acree, T. E., An, H.; Decker, E. A., Penner, M. H., Reid, D. S., Schwartz, S. J., Shoemaker, C. F. and Sporns, P., Eds.). John Wiley & Sons Inc., New York, USA. 1–13.
- HÄKINEN, S. H., MYKKANEN, H. M., HEINONEN, I. M. and TÖRRÖNEN, A. R. (2000). Ellagic acid content in berries: Influence of domestic processing and storage. *European Food Research and Technology*, **212**, 75–80.
- HANCOCK, J. F. (1999). *Strawberries (Crop Production in Horticulture)*. CABI Publishing, Wallingford, Oxon, UK. 237 pp.
- HIMELRICK, D. G., DOZIER, W. A. and AKRIDGE, J. R. (1993). Effect of mulch type in annual hill strawberry plasticulture systems. *Acta Horticulturae*, **348**, 207–212.
- HUANG, D., OU, B., HAMPSCH-WOODILL, M., FLANAGAN, J. A. and PRIOR, R. L. R. (2002). High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 4437–4444.
- JAAKOLA, L. and HOHTOLA, A. (2010). Effect of latitude on flavonoid biosynthesis in plants. *Plant, Cell & Environment*, **33**, 1239–1247.
- JOSUTTIS, M., KRÜGER, E. and DIETRICH, H. (2009). Influence of cultivation techniques on health beneficial components in strawberry. *Acta Horticulturae*, **838**, 205–206.
- JOSUTTIS, M., DIETRICH, H., TREUTTER, D., WILL, F. and LINNEMANNSTÖNS, L. (2010). Solar UVB response of bioactives in strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch. L.): A comparison of protected and open-field cultivation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **58**, 12692–12702.
- LE MIÈRE, J., HADLEY, P., DARBY, J. and BATTEY, N. H. (1998). The effect of thermal environment, planting date and crown size on growth, development and yield of *Fragaria × ananassa* Duch. cv. Elsanta. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, **73**, 786–795.
- MÄÄTTÄ-RIIHINEN, K. R., KAMAL-ELDIN, A. and TÖRRÖNEN, A. R. (2004). Identification and quantification of phenolic compounds in berries of *Fragaria* and *Rubus* species (Family Rosaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 6178–6187.
- MARTÍNEZ-BALLESTA, M., LÓPEZ-PÉREZ, L., HERNÁNDEZ, M., LÓPEZ-BERENGUER, C., FERNÁNDEZ-GARCÍA, N. and CARVAJAL, M. (2008). Agricultural practices for enhanced human health. *Phytochemistry Reviews*, **7**, 251–260.
- MOOR, U., KARP, K., POLDMA, P. and PAE, A. (2005). Cultural systems affect content of anthocyanins and vitamin C in strawberry fruit. *European Journal of Horticultural Science*, **70**, 195–201.
- PRIOR, R. L., FAN, E., JI, H., HOWELL, A., NIO, C., PAYNE, M. J. and REED, J. (2010). Multi-laboratory validation of a standard method for quantifying proanthocyanidins in cranberry powders. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **90**, 1473–1478.
- RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M. and RICE-EVANS, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, **26**, 1231–1237.
- REMBERG, S. F., SØNSTEBY, A., AABY, K. and HEIDE, O. M. (2010). Influence of postflowering temperature on fruit size and chemical composition of ‘Glen Ample’ raspberry (*Rubus idaeus* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **58**, 9120–9128.
- SEERAM, N. P. (2008). Berry fruit for cancer prevention: Current status and future prospects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**, 630–635.
- SINGLETON, V. L., ORTHOFER, R. and LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology: Oxidants and Antioxidants Part A*, **299**, 152–178.
- TREUTTER, D. (2005). Significance of flavonoids in plant resistance and enhancement of their biosynthesis. *Plant Biology*, **7**, 581–591.
- TREUTTER, D. (2010). Managing phenol contents in crop plants by phytochemical farming and breeding – visions and constraints. *International Journal of Molecular Sciences*, **11**, 807–857.
- WANG, S. Y. and CAMP, M. J. (2000). Temperatures after bloom affect plant growth and fruit quality of strawberry. *Scientia Horticulturae*, **85**, 183–199.
- WANG, S. Y. and ZHENG, W. (2001). Effect of plant growth temperature on antioxidant capacity in strawberry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**, 4977–4982.
- WANG, S. Y. and MILLNER, P. (2009). Effect of different cultural systems on antioxidant capacity, phenolic content, and fruit quality of strawberries (*Fragaria × ananassa* Duch.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **57**, 9651–9657.
- WANG, S. Y., ZHENG, W. and GALLETTA, G. J. (2002). Cultural system affects fruit quality and antioxidant capacity in strawberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 6534–6542.

5

Einfluss der Erntesaison auf wertgebende Inhaltsstoffe am Beispiel einer remontierenden Sorte

5.1 Einleitung

Der Einfluss von Sorte und Kulturmaßnahmen auf sekundäre Fruchtinhaltsstoffe der Erdbeere wurde in zahlreichen Studien erfasst [48, 65, 66, 77, 87, 147], wobei der Erntezeitpunkt oft unberücksichtigt ist. So spielt nicht nur der Jahreseinfluss eine Rolle [91, 209], sondern auch der Verlauf einer Saison, mit der Folge, dass sich die Gehalte an bioaktiven Inhaltsstoffen in Erdbeeren währenddessen stark unterscheiden [81, 158, 163, 166, 295]. Dies wird auch durch Versuche an der Sorte 'Korona' von Anttonen et al. [77] bestätigt. In dieser Studie wurden während eines Gewächshausversuches Variationen durch Pflanzung an drei verschiedenen Terminen untersucht. Die Früchte wurden je nach Fruchtart (primär, sekundär, tertiär) zwischen Kalenderwoche 19 und 25 geerntet. Dabei waren die größten Ergebnisunterschiede 1,5-fach für Gesamtphenole und antioxidativen Kapazität (DPPH), 2,1-fach für Ellagsäure und 2,4-fach für Anthocyane.

In diesem Teil der Arbeit sollten wertgebende Inhaltsstoffe einer Erdbeersorte während der Saison detailliert untersucht werden. Unter Berücksichtigung von zwei Versuchsjahren wurden zeitlich versetzt und in regelmäßigen Abständen Probenahmen durchgeführt. Da remontierende Erdbeersorten im Gegensatz zu den Standard-Kurztagssorten kontinuierlich Blüten bilden, bis eine kritische Tagesminimumtemperatur erreicht ist [39], wurde dieser Erdbeertyp für die Untersuchung gewählt. Dadurch konnte der Versuch über einen längeren Zeitraum durchgeführt und der Effekt von unterschiedlichen Wachstumsbedingungen erfasst werden.

5.2 Material & Methoden

5.2.1 Versuchsaufbau

Die Versuche fanden im Jahr 2008 und 2009 unter Verwendung der Sorte 'Everest' am Standort Geisenheim statt. Die Pflanzen wurden Ende April (2008) bzw. Mitte Mai (2009) in dreifacher Wiederholung à 100 Pflanzen direkt in den gewachsenen Boden gepflanzt. Die ersten Blütenstände wurden, wie es für remontierende Sorten üblich ist, entfernt [39]. Darüber hinaus wurden die Erträge, die durchschnittliche wöchentliche Lufttemperatur und die Einstrahlungswochensummen als PAR sowie die UV-B-Strahlung gemessen. Des Weiteren wurden die Blüten von fünf Pflanzen je Wiederholung bei Blühbeginn markiert, so dass die Entwicklungszeit von der Anthese bis zur Reife erfasst wurde. Zusätzlich wurden die Früchte nach ihrer Fruchtordnung in primär, sekundär und tertiär klassifiziert, wodurch die einzelnen Anteile im Verlauf der Saison dokumentiert werden konnten. Die Probenahme fand, soweit ausreichend Probenmaterial zur Verfügung stand, alle zwei Wochen statt.

5.2.2 Chemische Analyse

Die Analysen der Qualitätsparameter Zucker, Gesamtsäure und Trockenmasse sowie die bioaktiven Substanzen wurden so durchgeführt, wie in den Publikationen Josuttis et al. [163, 166] aus den Jahren 2010 und 2011 beschrieben (vgl. Kapitel 4, 6 und 9). Alle Ergebnisse beziehen sich auf das Frischgewicht (FG).

5.2.3 Statistische Auswertung

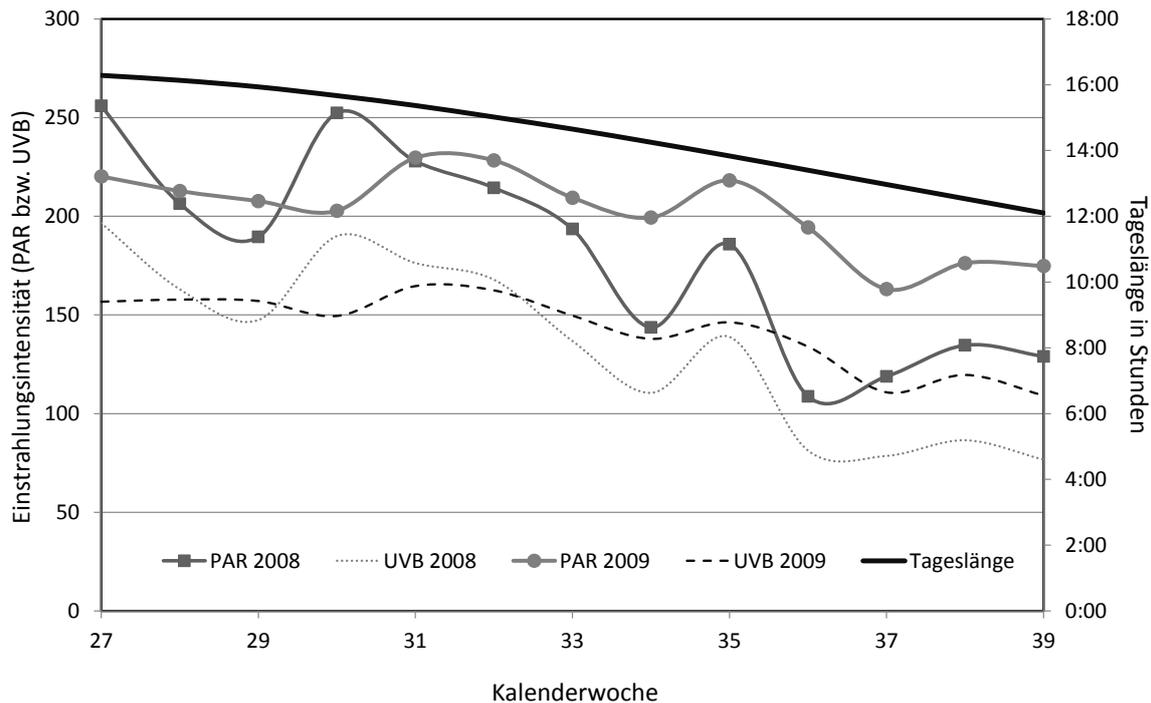
Zur Untersuchung des Saisoneinflusses wurden die Analysenergebnisse der Erntemonate Juli (fünf Probenahmetermine [n = 15] bis einschließlich KW 31), August (drei Probenahmetermine [n = 9] bis einschließlich KW 35) sowie September (drei Probenahmetermine [n = 9] bis einschließlich KW 39) beider durchgeführten Versuchsjahre miteinander verglichen. Die Ergebnisse der insgesamt elf Probenahmetermine wurden je Termin (n = 3) statistisch mittels Tukey-Test ($P < 0,05$) ausgewertet und der Übersichtlichkeit halber tabellarisch im Appendix (Kapitel 12) aufgelistet. Zusätzlich wurden Mittelwerte der Versuchsjahre 2008 (n = 18) und 2009 (n = 15) verglichen, die in denselben Tabellen zu finden sind. In allen Abbildungen und Tabellenspalten sind signifikante Unterschiede mit unterschiedlichen Buchstaben gekennzeichnet. Darüber hinaus werden Korrelationsresultate nach Pearson beschrieben. Die Ergebnisauswertung wurde mit SPSS durchgeführt. Zur Beschreibung des Fruchtgewichts, der Fruchtart und der Dauer von der Blüte bis zur Reife wurden mittels Excel 2010 die Funktionen 1. Ordnung (lineare Regression) oder 2. Ordnung eingesetzt, um die Ergebnisinterpretation zu unterstützen.

5.3 Ergebnisse

5.3.1 Umweltfaktoren

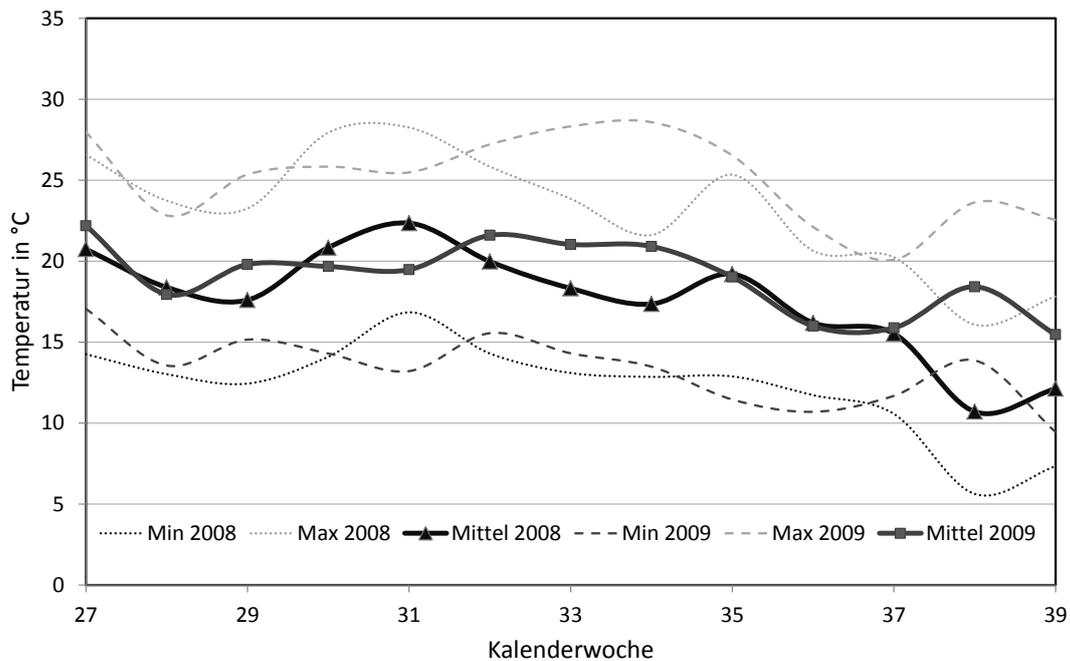
Die wesentlichen äußeren Einflüsse, die sich während der Versuchsdauer von Anfang Juli bis Ende September veränderten, waren Temperatur, Tageslänge, Einstrahlung (PAR, UV-B) und Niederschlag. Über die gesamte Versuchsdauer wurden die Pflanzen bei Bedarf bewässert (vgl. Kapitel 3.2), wodurch eine niederschlagsunabhängige Wasserversorgung der Pflanze gegeben war. Der Niederschlag wurde daher nicht berücksichtigt.

Die Tageslänge ist von der Jahreszeit abhängig und ändert sich im Jahresverlauf je nach Breitengrad. Während der Versuchsdauer verkürzte sich die Tageslänge daher von etwa 16 Stunden in Kalenderwoche (KW) 27 auf etwa 12 Stunden in KW 39 (Abb. 5.1).

**Abb. 5.1:**

Wöchentliche Einstrahlungssumme gemessen als PAR (mol m^{-2}) bzw. UVB (W m^{-2}) und Tageslänge (h) während der Versuchsdauer von Anfang Juli bis Ende September 2008 und 2009.

Die als PAR und UV-B gemessenen Einstrahlungswochensummen reduzierten sich ebenfalls. Jedoch konnte hier keine stetige, kontinuierliche Abnahme beobachtet werden (Abb. 5.1). 2008 und 2009 wurden von KW 27 bis KW 32 PAR-Summen zwischen 200 und 250 $\text{mol m}^{-2} \text{Woche}^{-1}$ aufgezeichnet. Während diese Strahlungssumme im Jahr 2008 ab KW 33 in den Bereich von 150 bis 200 mol m^{-2} pro Woche absank, geschah dies 2009 erst nach KW 36. Während der letzten drei Wochen dieser Versuchsperiode pendelte sich durchschnittlich eine Wochensumme von 175 mol m^{-2} ein. Im Jahr 2008 fand zu jenem Zeitpunkt (KW 36) eine weitere Reduzierung statt; so wurde in dieser KW die niedrigste PAR-Summe mit 109 $\text{mol m}^{-2} \text{Woche}^{-1}$ gemessen. Anschließend stieg die PAR-Wochensumme wieder leicht an und lag in den letzten drei Wochen dieses Versuchsjahres durchschnittlich bei 125 $\text{mol m}^{-2} \text{Woche}^{-1}$. Die gemessene UV-B-Strahlung zeigte einen vergleichbaren Verlauf (Abb. 5.1). Im Mittel betragen die wöchentlichen PAR-Summen (UV-B-Strahlungssummen) 2008 182 mol m^{-2} (135 W m^{-2}) und 2009 203 mol m^{-2} (143 W m^{-2}).

**Abb. 5.2:**

Wöchentlich durchschnittliche Tagestemperatur (Mittel), Tagesminimumtemperatur (Min) und Tagesmaximumtemperatur (Max) in °C während der Versuchsdauer von Anfang Juli bis Ende September 2008 und 2009.

Die Temperaturen zeigten in beiden Versuchsjahren im Rahmen der Versuche ähnliche Verläufe mit vereinzelt Unterschieden. Im Jahr 2008 stiegen die Temperaturen vor allem ab KW 29 an. In KW 30 und 31 wurde die höchste durchschnittliche Tagesmaximumtemperatur gemessen (Abb. 5.1). Ein ähnlicher Anstieg fand im Jahr 2009 ab KW 31 statt. Allerdings unterschieden sich ab diesem Zeitpunkt in erster Linie die durchschnittlichen Tagesmaximumtemperaturen der beiden Versuchsjahre, während die Tagesminimumtemperaturen nur geringfügige Unterschiede aufwiesen. Ab KW 35 war in beiden Jahren eine ähnliche Temperaturabnahme zu beobachten. In KW 38 (2009) stieg die durchschnittliche Temperatur von im Mittel 15,9 °C auf 18,4 °C an, wohingegen sie sich 2008 in diesem Zeitraum weiter auf 10,7 °C abkühlte.

Da die Ergebnisse im Folgenden auf die Erntemonate bezogen werden, werden in Tab. 5.1 zum Vergleich die mittleren Temperaturen sowie PAR, UVB-Strahlung und die Tageslänge der Monate Juli, August und September der beiden Versuchsjahre und die Jahresunterschiede 2008 und 2009 zusammengefasst.

Tab. 5.1:
Mittlere klimatische Daten während des Saisonverlaufs im Juli, August und September bzw. während der gesamten Saison 2008 und 2009.

	Juli	August	September	2008	2009
T_{mittel} (°C)	19,9	19,7	15,0	17,6	19,0
T_{max} (°C)	25,7	25,9	20,4	23,2	25,0
T_{min} (°C)	14,1	13,5	10,1	12,2	13,4
PAR Wochensumme (mol m ⁻²)	221	199	150	215	214
UV-B Wochensumme (W m ⁻²)	165	144	100	157	149
Tageslänge (h)	15:52	14:26	12:45	-	-

T_{mittel} = durchschnittliche Tagestemperatur, T_{min} = durchschnittliche Tagesminimumtemperatur und T_{max} = durchschnittliche Tagesmaximumtemperatur

5.3.2 Ertrag, Fruchtgröße und Verteilung der Fruchtart

Die agronomisch ermittelten Daten waren in beiden Versuchsjahren einander ähnlich. 2008 wurde mit 1122 g/Pflanze ein vergleichbarer Ertrag erzielt wie im Versuchsjahr 2009 mit 1186 g/Pflanze. Im Versuchsverlauf verzögerte sich die Ernte 2009 jedoch um etwa drei Wochen, was durch den späteren Pflanztermin und kühlere Durchschnittstemperaturen im Mai (2008: 18,7 °C; 2009: 17,3 °C) und Juni (2008: 20,3 °C; 2009: 18,3 °C) bedingt war (Abb. 5.3, vgl. Kapitel 8: Abb. 8.3).

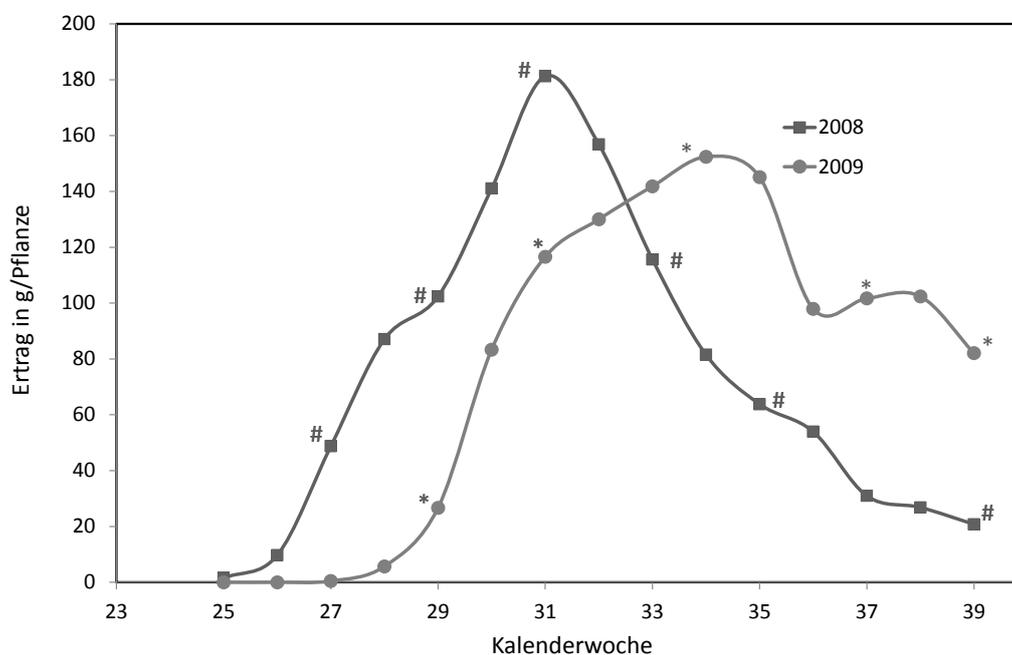


Abb. 5.3:
Wöchentlicher Ertrag in g pro Pflanze und Probenahmen während der Versuchsdauer von Anfang Juli bis Ende September 2008 und 2009.

Probenahmetermin 2008, *Probenahmetermin 2009

Ähnlich wie bei einmaltragenden Sorten ist auch bei remontierenden Sorten während des Ernteverlaufs ein Ertragsmaximum festzustellen; dieses war 2008 in KW 30 und 2009 in KW 34 zu beobachten (Abb. 5.3). Abbildung 5.3 stellt weiterhin die einzelnen Probenahmeterminale dar, die für die chemische Analyse herangezogen wurden.

Das durchschnittliche Fruchtgewicht (Früchte > 25 mm) betrug am Saisonanfang über 20 g und nahm dann bis etwa zur KW 35 im Verlauf der Ernte in beiden Jahren ab (Abb. 5.3). Mit dem weiteren Fortschreiten der Saison stagnierte es bei einem Gewicht von ca. 15 g bzw. stieg vor allem im Versuchsjahr 2009 leicht auf 16 g wieder an. Diese Abhängigkeit des durchschnittlichen Fruchtgewichts vom Erntezeitpunkt konnte in beiden Jahren mit einer Funktion 2. Ordnung beschrieben werden ($R^2 = 0,85$; 2008 bzw. $R^2 = 0,90$; 2009) (Abb. 5.4).

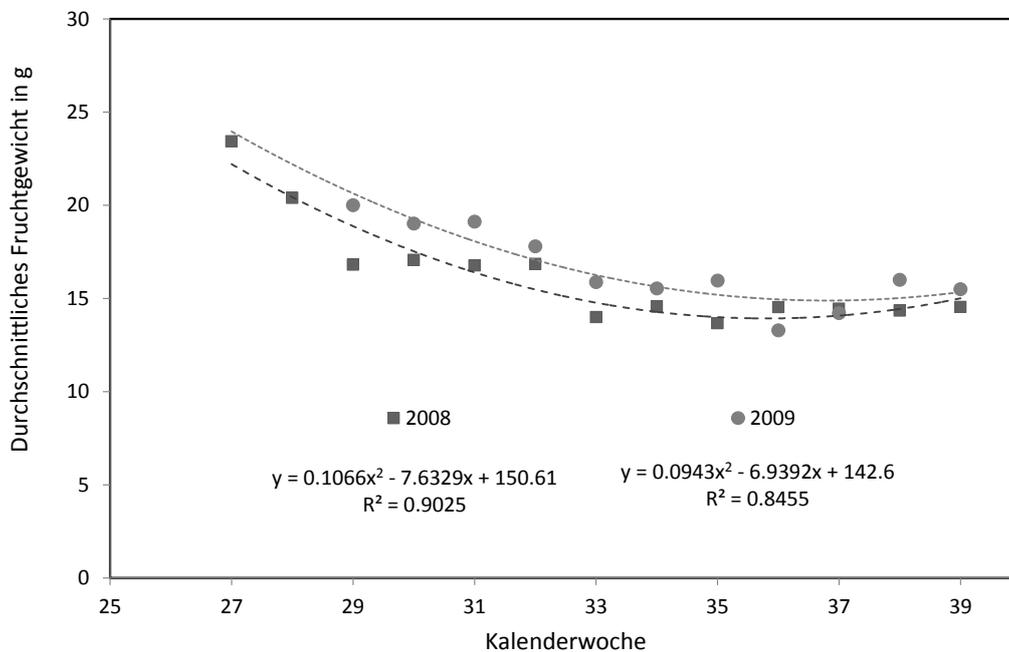


Abb. 5.4:

Durchschnittliches wöchentliches Fruchtgewicht in g während der Versuchsdauer von Anfang Juli bis Ende September 2008 und 2009.

Abb. 5.5 stellt die Tage vom Blühbeginn bis zur Fruchtreife dar. Die Verläufe ähnelten sich in beiden Versuchsjahren. Am Anfang der Saison wurde die kürzeste Reifezeit beobachtet, die sich im Lauf der Versuchsperiode aber verlängerte. 2008 betrug die für die von Blüte bis Reife benötigte Dauer durchschnittlich 25 Tage und erstreckte sich über einen Zeitraum von 20 bis 31 Tagen, während sie 2009 durchschnittlich 23 Tage mit einer Spannweite von 22 bis 27 Tagen betrug. Hierbei ist jedoch zu berücksichtigen, dass die ersten Daten im Versuchsjahr 2009 erst drei Wochen später aufgezeichnet wurden als im Versuchsjahr 2008. Wird für 2008 der gleiche Zeitraum wie 2009 betrachtet, verlängert sich 2008 die durchschnittliche Dauer von Blüte bis zur Reife auf 26 Tage. Mittels linearer

Regression konnte annähernd die Dauer von Blühbeginn bis Fruchtreife in Abhängigkeit von der Kalenderwoche beschrieben werden. 2008, und entsprechend für 2009, ergab sich eine Steigung von 1,03 und 0,75 mit einem Korrelationskoeffizienten R^2 von 0,81 bzw. 0,65 (Abb. 5.5).

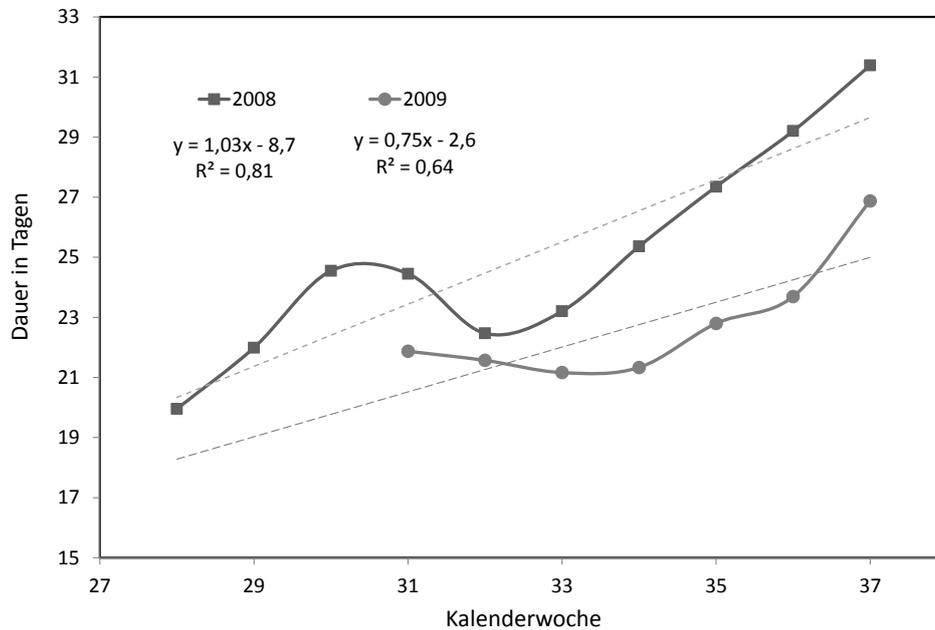


Abb. 5.5:

Durchschnittliche Dauer in Tagen vom Blühbeginn bis zur Fruchtreife während der Versuchsdauer von Anfang Juli bis Ende September 2008 und 2009.

Die Verteilung der geernteten Früchte hinsichtlich der Fruchtart (primäre, sekundäre und tertiäre Früchte, vgl. Kapitel 2 Abb. 2.3) war in beiden Versuchsjahren ähnlich.

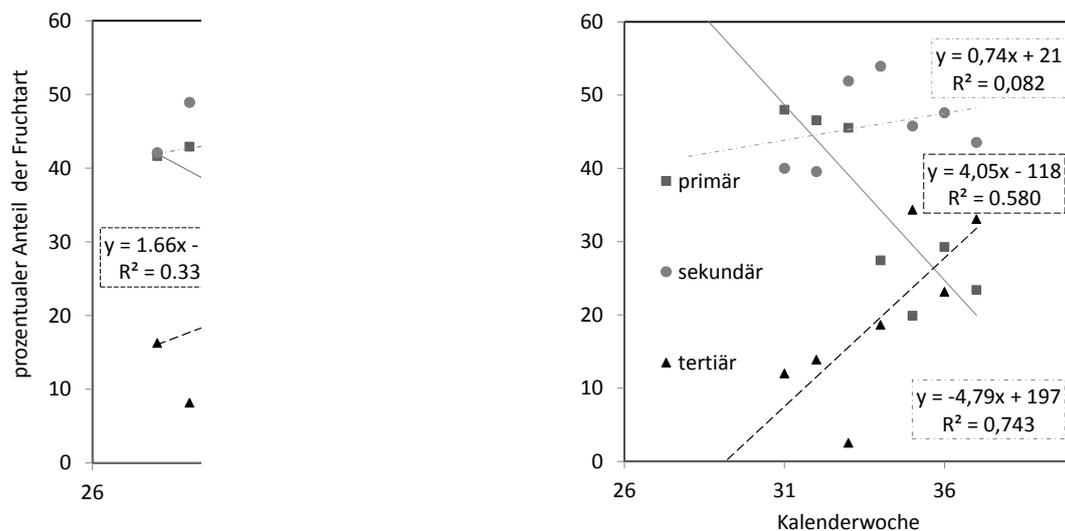


Abb. 5.6:

Wöchentliche Fruchtverteilung primärer (■), sekundärer (●) und tertiärer (▲) Früchte während der Versuchsdauer von Anfang Juli bis Ende September 2008 (links) und 2009 (rechts).

Die primären Früchte nahmen durchschnittlich einen Anteil von 31 % ein, wohingegen der Anteil der sekundären Früchte 46 % und jener der tertiären Früchte 23 % betrug. Im

Verlauf der Saison blieb der Anteil sekundärer Früchte verhältnismäßig konstant. Der Anteil der tertiären Früchte erhöhte sich dagegen stetig, wobei sich der Anteil der primären Früchte kontinuierlich verringerte (Abb. 5.6). Im Jahr 2009 war der Anstieg bzw. Abfall steiler, doch ist auch hier zu berücksichtigen, dass die Datenaufzeichnung etwa drei Wochen später begann.

5.3.3 Konventionelle Qualitätsparameter

Der Qualitätsparameter Zucker (lösliche Trockenmasse) der Früchte schwankte während der Versuchsperiode in beiden Jahren zwischen 6,5 °Brix und 9,3 °Brix und die absolute Trockenmasse zwischen 8,4 % und 10,5 %, jeweils ohne signifikanten Saisontrend (Tab. 12.1, Abb. 5.7). Die beiden Parameter zeigten eine hohe Korrelation mit $r = 0,650$. Der ermittelte Gesamtsäuregehalt der Früchte lag zwischen $6,2 \mu\text{g g}^{-1}$ und $8,9 \mu\text{g g}^{-1}$ (Tab. 12.1). Anders als bei den zuvor genannten Parametern konnte ein Saisontrend beobachtet werden (Abb. 5.7). Der Gesamtsäuregehalt verringerte sich mit dem Fortschreiten des Erntezeitpunkts. Im Monat Juli war der mittlere Gesamtsäuregehalt der Früchte am höchsten gefolgt von den Monaten August und September.

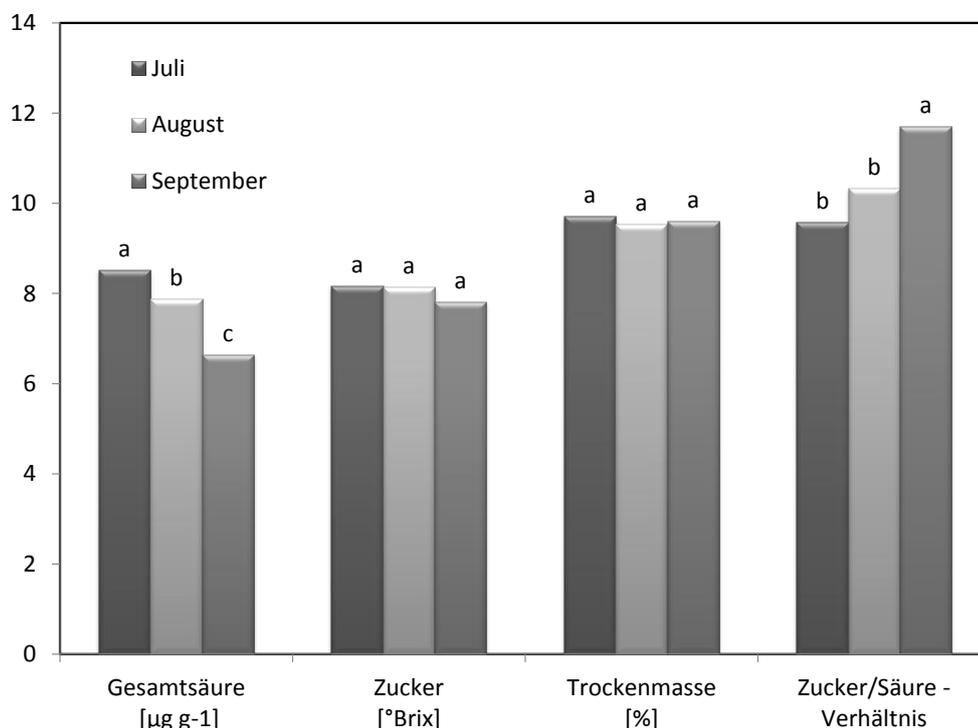


Abb. 5.7:

Mittlere Fruchtgehalte der konventionellen Qualitätsparameter während der Saison im Juli, August und September (2008 und 2009).

Dieser Beobachtung lag in Bezug auf die Kalenderwoche ein Regressionskoeffizienten von $R^2 = 0,83$ zugrunde. Das Zucker/Säure-Verhältnis variierte während der Saison zwischen

9,0 und 13,3 (Tab. 12.1). Bedingt durch die Unterschiede des Gesamtsäuregehaltes konnten auch hier signifikante Unterschiede mit ansteigendem Trend beobachtet werden (Abb. 5.2). Insgesamt gab es keine Jahresunterschiede bei den beschriebenen Parametern (Tab. 12.1).

5.3.4 Gesundheitlich relevante Inhaltsstoffe

5.3.4.1 Bioaktive Inhaltsstoffe als Summenparameter

Zur Ermittlung der antioxidativen Kapazität wurden drei verschiedene Testsysteme verwendet: die Bestimmung der Gesamtphenole nach Folin-Ciocalteu, der TEAC-Test und der ORAC-Test (Abb. 5.8). Des Weiteren wurden die Summenparameter der anteilig wichtigsten bioaktiven Inhaltsstoffe der Erdbeere wie Gesamtanthocyane, Proanthocyanidine, Ellagsäure nach Hydrolyse und der Vitamin C-Gehalt verglichen (Abb. 5.9).

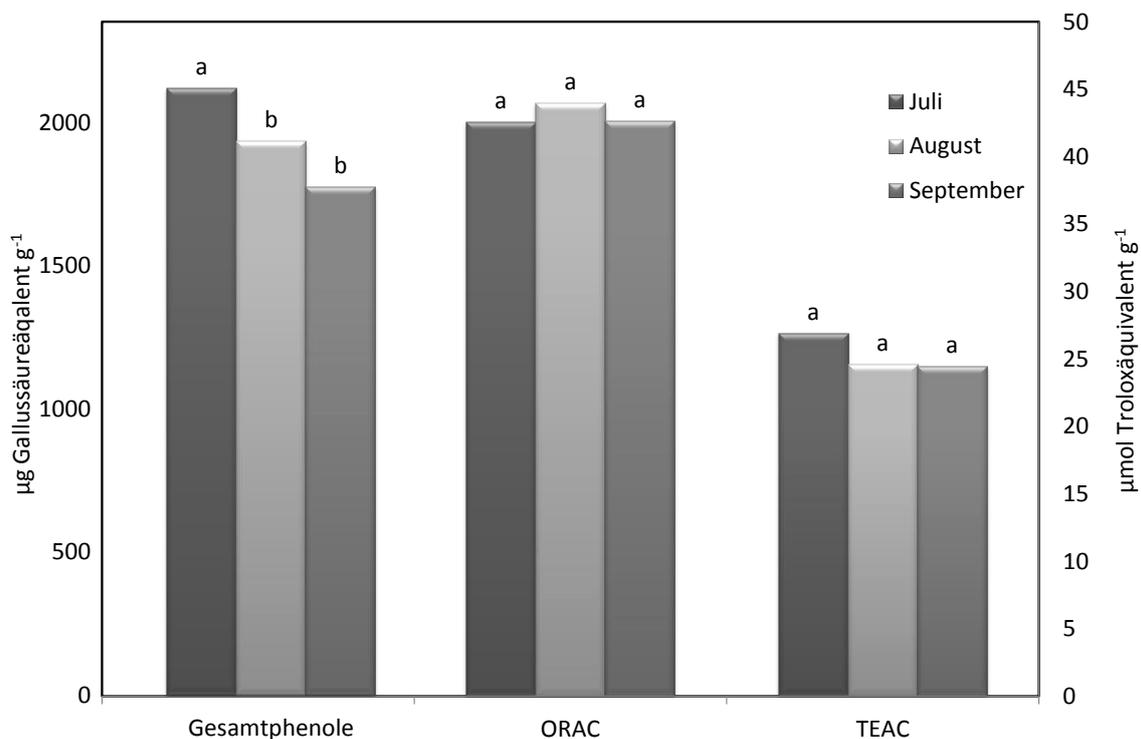


Abb. 5.8:

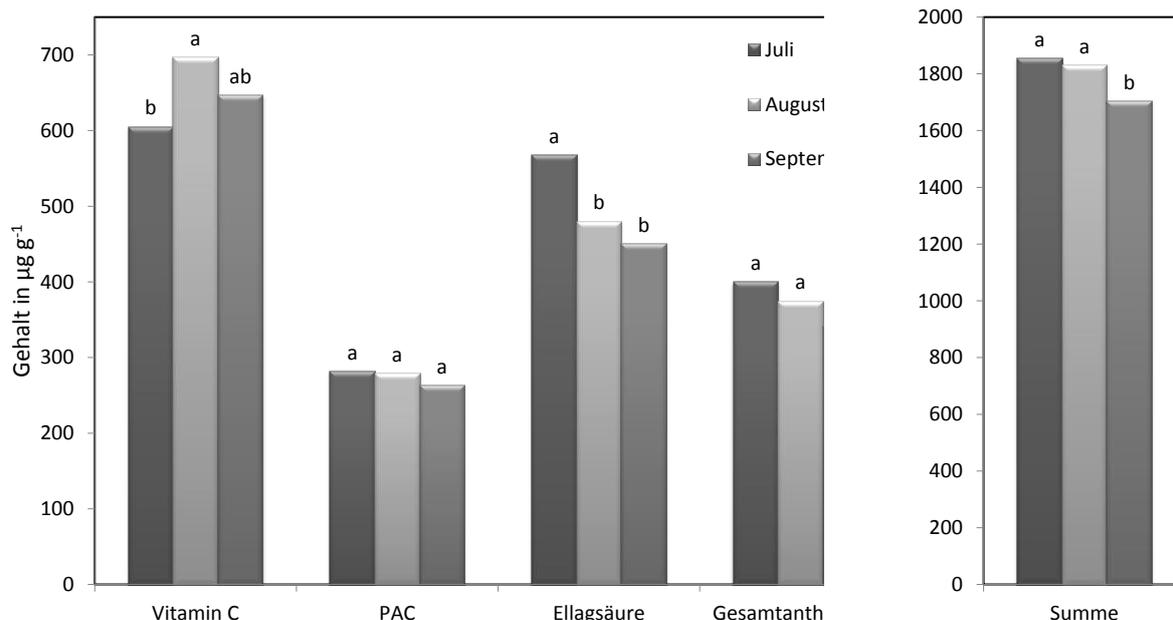
Mittlere antioxidative Kapazität bestimmt als Gesamtphenole in µg Gallussäureäquivalent je g Frischgewicht, ORAC und TEAC als µmol Troloxäquivalent je g Frischgewicht der Früchte während der Saison im Juli, August und September (2008 und 2009).

Der Gesamtphenolgehalt der Früchte war im Juli signifikant höher als im August und September. Die TEAC- und ORAC-Werte wiesen im Gegensatz dazu während der Saison im Mittel keine Unterschiede auf (Abb. 5.8). Der Mittelwert der Gesamtphenole der beiden Versuchsjahre unterschied sich nicht (Tab. 12.2). Demgegenüber waren die TEAC-Werte 2008 mit 23,8 µmol TE g⁻¹ niedriger als 2009 mit 27,7 µmol TE g⁻¹. Für den Parameter

ORAC, dem ein anderes chemisches Prinzip zugrunde liegt als den zuvor genannten Antioxidantien-Tests [266], zeigten im Jahr 2008 geerntete Früchte mit $45,1 \mu\text{mol TE g}^{-1}$ im Mittel einen höheren Wert als 2009 mit $40,3 \mu\text{mol TE g}^{-1}$ (Tab. 12.2). Der Parameter ORAC zeigte nach Pearson keine Korrelation mit dem Gesamtphenolgehalt und eine schwach negative Korrelation zu dem TEAC-Wert ($r = -0,370$). Die drei Antioxidantien-Tests variierten zwischen den einzelnen Ernteterminen 1,4- bis 1,5-fach (Tab. 12.2).

Die Summe der Gesamtanthocyane, der Ellagsäure nach Hydrolyse, der Proanthocyanidine und des Vitamins C war weitestgehend konstant und zeigte maximal 1,2-fache Unterschiede zwischen dem größten ($1959 \mu\text{g g}^{-1}$) und dem kleinsten Wert ($1649 \mu\text{g g}^{-1}$) (Tab. 12.3). Im Saisonverlauf wurde im September ein um weniger als 8 % signifikant niedrigerer summarischer Gehalt ermittelt als in den Monaten Juli und August (Abb. 5.9). Die einzelnen Parameter hingegen zeigten breitere Variationen. Die Werte für Vitamin C lagen zwischen $570 \mu\text{g g}^{-1}$ und $740 \mu\text{g g}^{-1}$ (Tab. 12.3). Im Vergleich zu allen anderen Parametern war der Vitamin C-Gehalt der einzige Parameter, der während der Saison tendenziell nicht abnahm. So wurde der niedrigste Gehalt im Juli beobachtet, der sich signifikant von dem im August allerdings nicht von dem Gehalt im September unterschied (Abb. 5.9).

Die tanninischen Phenole wiesen folgende Resultate auf: Die mittleren PAC-Gehalte der Monate Juli, August und September zeigten keine signifikanten Unterschiede (Abb. 5.9). Der höchste Gehalt an PAC in den Früchten betrug $336 \mu\text{g g}^{-1}$ in 2008 bzw. $286 \mu\text{g g}^{-1}$ in 2009 während 2008 die niedrigsten Gehalte im Mittel $270 \mu\text{g g}^{-1}$ betrug und 2009 bei $222 \mu\text{g g}^{-1}$ lagen (Tab. 12.3). Aus diesen Werten ist erkennbar, dass die PAC-Gehalte 2009 im Saisonmittel mit $256 \mu\text{g g}^{-1}$ geringer waren als 2008 mit $292 \mu\text{g g}^{-1}$ und sich signifikant voneinander unterschieden (Tab. 12.3). Der als Ellagsäure bestimmte Ellagtanningehalt der Früchte verringerte sich im Vergleich zu den kondensierten Tanninen mit fortschreitender Saison (Abb. 5.9). Der mittlere Ellagtanningehalt war im Juli signifikant höher als die Gehalte im August und im September. Die Schwankungsbreite zwischen einzelnen Ernteterminen war bei beiden Tanningruppen ähnlich und betrug maximal das 1,6-Fache (Tab. 12.3). Die Ellagtanningehalte korrelierten stärker mit den Gesamtphenolgehalten ($r = 0,717$) und TEAC-Werten ($r = 0,603$) als mit dem ORAC-Wert ($r = -0,158$). Die kondensierten Tannine wurden hingegen stärker mit dem ORAC-Test ($r = 0,658$) als mit den anderen Methoden (Gesamtphenole $r = 0,410$; TEAC $r = 0,717$) erfasst.

**Abb. 5.9:**

Mittlere Fruchtgehalte bezogen auf das Frischgewicht an Vitamin C, Proanthocyanidinen (PAC), Ellagsäure (bestimmt nach Hydrolyse der Ellagtannine) und Gesamtanthocyanen sowie Summe dieser während der Saison im Juli, August und September (2008 und 2009).

Was die Anthocyangehalte anbelangt, wurde zwar während der Saison ein abnehmender Trend beobachtet, jedoch ohne signifikante Unterschiede. Bei einzelner Betrachtung der Ergebnisse der verschiedenen Kalenderwochen wurde nach einem leichten Anstieg der Gesamtanthocyangehalte eine Abnahme beobachtet (Tab. 12.3). Dieser Trend wurde durch den letzten Untersuchungstermin im Jahr 2009 unterbrochen (Tab. 12.3), der durch einen Temperaturanstieg Ende September erklärt werden kann (Abb. 5.2). Insgesamt variierten die Anthocyangehalte der Früchte um das 1,7-Fache. Die Einzelanthocyanergebnisse werden im nächsten Abschnitt detailliert erläutert.

5.3.4.2 Anthocyane und farblose Phenole (HPLC)

Die Summe der mittels HPLC bestimmten Anthocyangehalte (Abb. 5.10) zeigte nach Pearson eine hohe Korrelation ($r = 0,894$) zu den Anthocyangehalten, die mittels pH-Shift Methode bestimmt wurden (vgl. Kapitel 5.3.4.1). Auch hier wurde eine ähnliche Schwankungsbreite zwischen minimalen und maximalen Wert von 70 % errechnet. Dieses Ergebnis war überwiegend auf den Gehalt des Hauptanthocyans Pelargonidin-3-*O*-glucosid zurückzuführen, das für die untersuchte Sorte einen Anteil von etwa 70 % einnahm. Der übrige Anthocyananteil setzte sich zusammen aus 18 % Pelargonidin-3-*O*-malonylglucosid, 5,5 % Pelargonidin-3-*O*-rutosid, 4,5 % Cyanidin-3-*O*-glucosid, 0,8 % Cyanidin-3-*O*-malonylglucosid und 0,2 % eines weiteren Pelargonidinderivates (Tab. 12.4, Abb. 5.10). Die Summe der Anthocyane war im Juli am höchsten gefolgt vom Monat August und signifikant niedriger im September (Abb. 5.10). Für Pelargonidin-3-*O*-glucosid war der Fruchtgehalt im Juli im Mittel am höchsten jedoch nicht unterscheidbar zu den darauffolgenden Monaten. Für die übrigen Anthocyane war eine ähnliche Abfolge (Juli \geq August \geq September) zu beobachten. Mit Ausnahme von Pelargonidin-3-*O*-malonylglucosid, dessen Gehalt im August am höchsten war und sich signifikant von dem Gehalt im September unterschied.

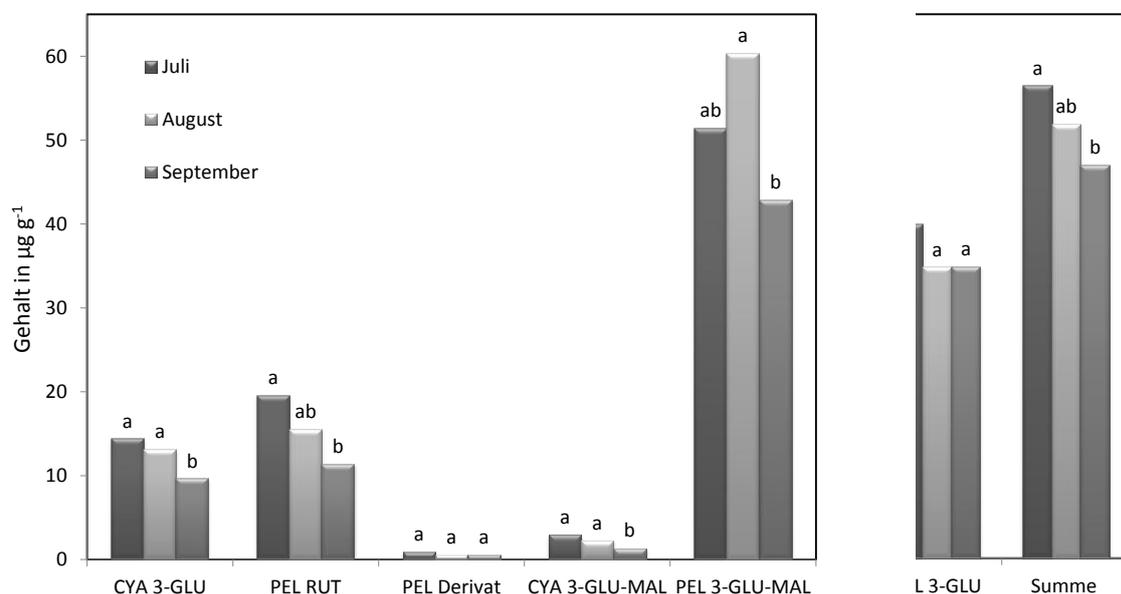


Abb. 5.10:

Mittlere Fruchtgehalte bezogen auf das Frischgewicht an Cyanidin-3-*O*-glucosid (CYA 3-GLU), Pelargonidin-3-*O*-rutosid (PEL 3-RUT), Pelargonidinderivat (PEL Derivat), Cyanidin-3-*O*-malonylglucosid (CYA 3-GLU-MAL), Pelargonidin-3-*O*-malonylglucosid (PEL 3-GLU-MAL), Pelargonidin-3-*O*-glucosid (PEL 3-GLU) und die Summe aller Anthocyane während der Saison im Juli, August und September (2008 und 2009).

Ein signifikanter Jahresunterschied zwischen den einzelnen Anthocyanen konnte ausschließlich bei den Pelargonidinen beobachtet werden (Tab. 12.4). 2009 waren die Gehalte an Pelargonidin-3-*O*-glucosid in den Früchten etwa um 14 % und die Gehalte an Pelargo-

nidin-3-*O*-rutinosid um 30 % gegenüber 2008 erhöht. Im Gegensatz dazu war der Gehalt an Pelargonidin-3-*O*-malonylglucosid 2008 um 30 % höher als 2009 (Tab. 12.4).

Für die farblosen Phenole konnte ein ähnlicher Trend wie bei den Anthocyanen beobachtet werden (Abb. 5.11). Der Gehalt an *p*-Cumaroyl-Glucose war im August am höchsten gefolgt, von den Monaten Juli und September. Ein vergleichbarer Saisoneinfluss war beim Pelargonidin-3-*O*-malonylglucosid (Abb. 5.10). Der Gehalt an freiem Ellagsäurederivat war im Monat Juli durchschnittlich am höchsten und signifikant unterschiedlich zu den Ergebnissen im August und September. Die Gehalte an Quercetinen und Kämpferolen unterschieden sich in den drei untersuchten Monaten nicht signifikant. Bei allen einzeln analysierten farblosen phenolischen Verbindungen konnte ein Jahresunterschied beobachtet werden. So wurden 2008 im Vergleich zu 2009 im Mittel etwa 30 % höhere Gehalte an Quercetin-3-*O*-glucuronid und Kämpferol-3-*O*-glucosid jedoch durchschnittlich 20 % geringere Gehalte an Kämpferol-3-malonylglucosid und *p*-Cumaroyl-Glucose ermittelt (Tab. 12.5).

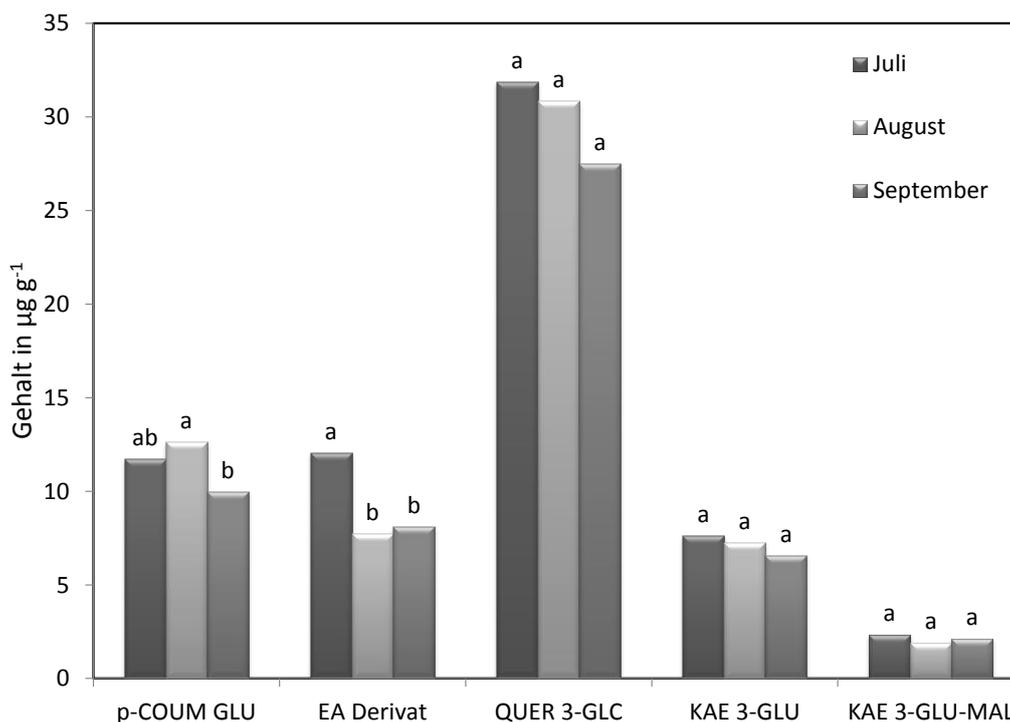


Abb. 5.11:

Mittlerer Fruchtgehalt an *p*-Cumaroyl-Glucose (p-CUM GLU), Ellagsäurederivat (EA Derivat), Quercetin-3-*O*-glucuronid (QUER 3-GLU), Kämpferol-3-*O*-glucosid einschließlich Kämpferol-3-*O*-glucosid (KAE 3-GLU), Kämpferol-3-*O*-malonylglucosid (KAE 3-GLU-MAL) während der Saison im Juli, August und September (2008 und 2009).

Die ermittelten Flavonoide sowie Phenolcarbonsäuren setzten sich aus *p*-Cumaroyl-Glucose (19 %), Ellagsäurederivat (16 %), Quercetin-3-*O*-glucuronid (49 %), Kämpferol-3-*O*-glucosid (12 %) und Kämpferol-3-*O*-malonylglucosid (4 %) zusammen (Tab. 12.5). Deren Summe zeigte einen ähnlichen Verlauf wie die der Anthocyane. Die Summen der

Anthocyane und farblosen Phenole korrelierten nach Pearson mit $r = 0,474$, wohingegen die farblosen Phenole mit 1,5-fachen Schwankungen eine höhere Konstanz zeigten als die Anthocyane (1,7-fach). Im Einzelnen konnte ein Zusammenhang von $r > 0,5$ zwischen den erwähnten Anthocyanen und der *p*-Cumaroyl-Glucose, dem Ellagsäurederivat und dem Kämpferol-3-*O*-malonylglucosid beobachtet werden. Obwohl der Anteil an Quercetin-3-*O*-glucuronid an der Gesamtsumme der aufgeführten farblosen Phenole der größte war, korrelierten die Anthocyane weder mit diesem Flavonoid noch mit dem Kämpferol-3-*O*-glucosid. Unter den farblosen Phenolen zeigten Kämpferol-3-*O*-glucosid und Quercetin-3-*O*-glucuronid die stärkste Korrelation nach Pearson ($r = 0,746$). Die übrigen drei erwähnten phenolischen Verbindungen korrelierten nicht mit Quercetin-3-*O*-glucuronid ($-0,2 < r < 0,2$). Weiterhin zeigte Kämpferol-3-*O*-malonylglucosid eine hohe Korrelation ($r = 0,741$) mit dem Ellagsäurederivat. Die *p*-Cumaroyl-Glucose wies hingegen eine weniger stark ausgebildete Verbindung (Ellagsäurederivat: $r = 0,356$ Kämpferol-3-*O*-malonylglucosid: $r = 0,352$) zu den zuvor genannten Substanzen auf.

5.4 Diskussion

Bedingt durch den Jahresverlauf verringerten sich in beiden Versuchsjahren vor allem ab KW 34 Temperatur, PAR und UV-B-Strahlung (Abb. 5.1 und Abb. 5.2). Die längere Entwicklungsdauer von Blüte bis Reife zum Ende der Vegetationsperiode (Abb. 5.5) ist auf diese Umstände zurückzuführen und stimmt mit Ergebnissen von Temperaturversuchen an Erdbeeren überein [296, 297]. Werden die Kalenderwochen beider Versuchsjahre direkt miteinander verglichen, zeigt sich, dass die Früchte im Jahr 2009, bedingt durch höhere Wachstumstemperaturen, um etwa drei Tage schneller heranreiften als 2008 (Tab. 5.1, Abb. 5.2 und 5.5). Weiterhin wurde im Verlauf der Erntesaison ein Ertragsmaximum und eine Abnahme des durchschnittlichen Fruchtgewichts festgestellt, die u. a. auf einen höheren Anteil an tertiären Früchten zurückzuführen ist (Abb. 5.4 Abb. 5.6) [40].

Beim Vergleich der Monate Juli, August und September zeigte sich ein negativer Effekt der Saison auf die Parameter Gesamtsäure, Gesamtphenole, einzelne Anthocyane und Ellagsäurederivate. Im Verlauf der Saison verringerten sich tendenziell zudem die Gehalte an Quercetin-3-*O*-glucuronid und Kämpferol-3-*O*-glucosid. Weitere signifikante Effekte ohne eindeutigen Saisontrend zeigten die Parameter Vitamin C, Pelargonidin-3-*O*-malonylglucosid und *p*-Cumaroyl-Glucose. Für die Parameter Zucker, Trockenmasse, antioxidative Kapazität (ORAC, TEAC), PAC und Kämpferol-3-*O*-malonylglucosid hingegen war im Rahmen dieser Untersuchungen kein Einfluss der Saison zu beobachten.

Anhand der gemittelten Klimadaten (Tab. 5.1) waren im Juli und August ähnliche Durchschnittstemperaturen zu beobachten. Hierbei ist allerdings zu beachten, dass im Jahr 2009 wärmere Bedingungen vorherrschten als 2008 und die mittleren Ergebnisse für die Früchte im Monat August sich aus zwei Terminen des ersten Versuchsjahres und einem Termin des zweiten Versuchsjahres ermittelt wurden (Abb. 5.3). Aus diesem Grund könnten kühlere Temperaturen für die oben beschriebenen Effekte durchaus eine Rolle spielen. Weiterhin könnte eine geringere Strahlungsintensität und Tageslänge im August im Vergleich zum Juli die ermittelten Gehalte beeinflusst haben. Die Effekte des Monats September könnten auf einen zusätzlichen Temperaturabfall zurückgeführt werden, doch auch hier sollte der Temperaturanstieg in der zweiten Septemberhälfte des Versuchsjahres 2009 berücksichtigt werden. Die gemittelten Klimadaten sollten also nur als erster Hinweis herangezogen werden. Bei der Betrachtung der Ergebnisse einzelner Termine ergab sich vielmehr eine Veränderung der analytischen Daten, die durch kurzzeitige Wetterumschläge bedingt war (vgl. Tab. 12.1 bis Tab. 12.5, Abb. 5.1 und Abb. 5.2). Der kurzfristige Einfluss von Umgebungsbedingungen auf sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe wird durch die erwähnte Studie von Anttonen et al. [77] bestätigt. Dort konnte ein Effekt nur schwer evaluiert werden, da durch unterschiedliche Erntetermine von primären, sekundären und tertiären Früchten die Untersuchungen zusätzlich erschwerten. Die Summe der anteilig bedeutendsten Substanzklassen mit bioaktiver Wirkung (Vitamin C, Gesamtanthocyane, Ellag-tannine und PAC) verringerte sich im Saisonverlauf signifikant (Abb. 5.9). Im Vergleich zu anderen Parametern wies diese Summe aber eine hohe Konstanz auf. Zwischen den beiden Versuchsjahren und einzelnen Probenahmeterminen wurden nur geringfügige Unterschiede von maximal 20 % in Bezug auf das Frischgewicht detektiert (Abb. 5.9, Tab. 12.3).

Der Gehalt an Vitamin C wird in Erdbeeren und auch in anderen Früchten durch kühle Temperaturen und eine hohe Lichtintensität positiv beeinflusst [147, 165, 166, 298]. In der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass am Anfang der Saison die Gehalte an Vitamin C im Mittel niedriger waren als in der Erntemitte bzw. zum Ende der Saison. Im Juli wurden im Mittel die geringsten Vitamin C-Gehalte detektiert gefolgt von den Monaten September und August. Die nicht unterscheidbaren mittleren Gehalte im Monat August und September können durch einen Ausgleich von Effekten wie kühle Temperaturen in Verbindung mit niedrigen PAR-Wochensummen begründet werden. Auch an den einzelnen Ernteterminen ermittelten Fruchtgehalte an Vitamin C lassen sich aus den aufgenommenen Temperaturen und PAR-Werten weitestgehend ableiten (Tab. 12.3, Abb. 5.1 und Abb. 5.2). Im Versuchsjahr 2008 kann der Anstieg von Vitamin C im Zeitraum von KW 31 bis

35 mit einem Abfall der Temperatur erklärt werden, der auch in KW 39 zu verzeichnen war und zusätzlich durch hohe PAR-Werte begünstigt wurde. Der Temperaturanstieg in KW 35 scheint eine untergeordnete Rolle zu spielen oder wird durch die hohen PAR-Summenwerte in dieser KW ausgeglichen (Abb. 5.1 und Abb. 5.2). Zudem sind die geringen Gehalte aus KW 29 in beiden Versuchsjahren durch hohe Temperaturen zu erklären. Insgesamt wurden im Jahr 2008 tendenziell höhere Vitamin C-Gehalte gefunden als 2009. Erklärt werden kann diese Beobachtung mit den niedrigeren mittleren Temperaturen im Versuchsjahr 2008.

Studien, die ebenfalls saisonale Effekte auf sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe von Erdbeeren untersuchten, zeigten bei einem Vergleich von Sommer- (T_{\min} 14,5 °C, T_{\max} 27,8 °C, Globalstrahlung 190 W m⁻²) und Winterernte (T_{\min} 6,3 °C, T_{\max} 14,9 °C, Globalstrahlung 58 W m⁻²) in Argentinien keine Unterschiede der Vitamin C-Gehalte [81], was vermutlich durch einen Ausgleich der Effekte von Licht und Temperatur bedingt war. Eine kürzlich publizierte brasilianische Studie fand in Früchten der Sorte 'Camino Real' im Juli mit Durchschnittstemperaturen von 18,9 °C und einer Tageslänge von 9 Stunden die höchsten Vitamin C-Gehalte mit 685 mg kg⁻¹, gefolgt vom Monat Mai mit 491 mg kg⁻¹ (T_{mittel} 20,1 °C, Tageslänge 8,2 h) und Monat September mit 392 mg kg⁻¹ (T_{mittel} 23,1 °C, Tageslänge 7,8 h) [89]. Eine kürzere Tageslänge war mit höheren Temperaturen verbunden, was sich in den ermittelten Gehalten widerspiegelt.

Zusatzversuche im Rahmen einer Bachelorarbeit zeigten, dass während der Fruchtreife der Vitamin C-Gehalt in den Früchten verhältnismäßig konstant war [111]. Dies wird durch andere Studien bestätigt, wobei jedoch auch Trends zu höheren und niedrigeren Vitamin C-Gehalten im Reifeverlauf beobachtet wurden [81, 91, 258, 299]. Diese Studien bieten eine Erklärung dafür, dass die Gehalte an Vitamin C nicht durch kurzfristige Änderungen des Wetters beeinflusst werden. Vielmehr erstreckt sich der witterungsbedingte Einfluss auf die Vitamin C-Gehalte über die gesamte Entwicklungsdauer der Früchte.

Die Anthocyangehalte in Erdbeeren hängen in erster Linie von der Wachstumstemperatur während der Reifung ab [147, 166], was durch die in dieser Studie erzielten Ergebnisse bestätigt wird. Die Gesamtanthocyane (pH-Shift), die einzeln bestimmten Anthocyane (HPLC) und deren Summe wiesen bis auf Pelargonidin-3-*O*-malonylglucosid den höchsten Wert im Juli und den niedrigsten im September auf. Ebenso lagen die genannten Gehalte bis auf Pelargonidin-3-*O*-malonylglucosid im wärmeren Jahr 2009 in der Regel höher als 2008 (Tab. 5.1, Tab. 12.3, Tab. 12.4). Der Temperaturverlauf während der Saison spiegelt sich in den ermittelten Anthocyangehalten wider. Anders als bei Vitamin C ist der Temperatureinfluss auf Anthocyane in Erdbeeren kurzfristiger, was durch einen Tempera-

turanstieg in KW 38 (2009) bestätigt wurde (Abb. 5.2). Die Temperaturen fielen in den Wochen zuvor ab. Dennoch konnten beim letzten Probenahmetermin 2009, bedingt durch einen Temperaturanstieg in KW 39, verhältnismäßig hohe Anthocyangehalte beobachtet werden, die sich nicht von den Anthocyangehalten in KW 31 bis 33 unterschieden. Auch die saisonale Studie von Pineli et al. [89] bestätigt die temperaturabhängige Bildung von Anthocyanen in Erdbeeren vor allem im letzten Reifestadium. Im Gegensatz hierzu zeigte die Studie von Ferreyra et al. [81] aus Argentinien keinen Unterschied der Anthocyangehalte im Winter und im Sommer der südlichen Hemisphäre, obwohl die Temperaturen sich in beiden Wachstumszeiträumen stark unterschieden. Dies widerspricht dem oben beschriebenen aktuellen Kenntnisstand, dass eine wärmere Umgebung einen positiven Einfluss auf den Anthocyangehalt in Erdbeeren ausübt [147, 166]. Da Anthocyane erst im späten Reifestadium gebildet werden, könnte das Ergebnis der argentinischen Studie mit kurzzeitig höheren (Kultivierung im Winter) bzw. niedrigeren (Kultivierung im Sommer) Umgebungstemperaturen vor der Probenahme erklärt werden, doch wurden die entsprechenden Daten nicht angegeben. Diese Vermutung wird durch die verschiedenen Verhältnisse zwischen den Anthocyangehalten von Sommer- und Winterfrüchten bestätigt [81].

Der starke Zusammenhang zwischen Anthocyanen und *p*-Cumaroyl-Glucose könnte auf der Akkumulierung dieser phenolischen Inhaltsstoffe im späten Reifestadium beruhen (vgl. Kapitel 2.2). Im Mittel zeigte *p*-Cumaroyl-Glucose einen ähnlichen saisonalen Verlauf wie Pelargonidin-3-O-malonylglucoside. Da Anthocyane Folgeprodukte von Flavonolen wie Quercetin oder Kämpferol sind, kann die geringe Korrelation zwischen diesen beiden Gruppen begründet werden. Über die Saison zeigten die Mittelwerte der Flavonoide Quercetin und Kämpferol einen ähnlichen Verlauf wie bei den Anthocyanen, allerdings ohne signifikante Unterschiede. In der Studie von Pineli et al. [89] wurde ebenfalls der Gehalt an Quercetin über die Saison untersucht, der sich aber im Juli und September nicht unterschied, obwohl die beiden Monate hinsichtlich Temperatur und Tageslänge die größte Differenz aufwiesen. Im Mai hingegen war der Quercetin-Gehalt mit $4,9 \text{ mg kg}^{-1}$ lediglich halb so hoch wie in den beiden zuvor genannten Monaten.

Temperaturversuche im Rahmen dieser Arbeit zeigten, dass der PAC-Gehalt in der reifen Frucht temperaturabhängig ist (vgl. Kapitel 4) [166]. Diese Beobachtung konnte auf den hier beschriebenen Versuch nicht übertragen werden. Diese Substanzgruppe zeigte weder im Verlauf der Saison einen Trend, noch wies sie eine Beziehung zu den Jahresdurchschnittstemperaturen (2008: $17,6 \text{ }^\circ\text{C}$; 2009: $19,0 \text{ }^\circ\text{C}$) auf. Im Gegensatz zu Anthocyanen, treten PAC in hohen Mengen in grünen unreifen Früchten auf und verringern sich im Laufe der Reifung. Ein Einfluss durch die Wachstumsbedingungen auf den Gehalt in der reifen

Frucht kann somit – anders als bei der Akkumulation von Anthocyanen, die im letzten Stadium gebildet werden – über den gesamten Reifungsprozess hinweg stattfinden. Demgegenüber nahm der Gehalt an Ellagtaganninen, deren Vorkommen ebenso temperaturabhängig ist [166], im Einklang mit den abnehmenden Temperaturen im Verlauf der Saison tendenziell ab.

Tulipani et al. [91] zeigten an verschiedenen Genotypen, dass zwischen zwei Anbaujahren die antioxidative Kapazität um das Zweifache variieren kann. Andere in dieser Studie untersuchten Genotypen wiesen allerdings stabilere Werte auf. Desgleichen zeigten Ferreyra et al. [81] an der Sorte 'Selva' bis zu zweifache Unterschiede im Gesamtphenolgehalt und der antioxidativen Kapazität zwischen Winter- und Sommerernte. In der Studie von Pineli et al. [89] enthielten die untersuchten Früchte im Juli und September die höchsten Gehalte an Gesamtphenolen mit etwa 2650 mg kg^{-1} und im Mai die niedrigsten mit 1790 mg kg^{-1} , was sich auch in der antioxidativen Kapazität (FRAP, DPPH) ausdrückt.

Generell erhöhen kühlere Wachstumsbedingungen zwar das durchschnittliche Fruchtgewicht von Erdbeeren [166, 300]. Während des Versuches verringerte sich das Fruchtgewicht, obwohl die Temperaturen sanken. Dies war bedingt durch den Ernteverlauf. Da ein Großteil der phenolischen Inhaltsstoffe auf der Oberfläche bzw. den Achänen lokalisiert ist [163], weisen kleinere Früchte aufgrund ihres anderen Oberflächen:Volumen-Verhältnisses prinzipiell höhere Gehalte pro Frucht auf. Dieses Phänomen könnte einen negativen Temperatureinfluss wieder ausgleichen. Bei den oben vorgestellten Ergebnissen von Ferreyra et al. [81] und Pineli et al [89] ist zu beachten, dass nur ein Versuchsjahr berücksichtigt wurde. Pineli et al. [89] untersuchte pro Monat lediglich einen Erntetermin, so dass drei Probenahmeterminen miteinander verglichen wurden. Vor dem Hintergrund der in der vorliegenden Arbeit vorgestellten Daten ist es allerdings fraglich, ob die beiden letztgenannten Studien ausreichend repräsentative Daten liefern, um Saisoneffekte beschreiben zu können. In der vorliegenden Arbeit wurden insgesamt elf Termine untersucht (Abb. 5.3). Auch bei der Beurteilung der vorliegenden gemittelten Daten sind zwingend die Ergebnisse der einzelnen Termine einzubeziehen. Die vorgestellten Durchschnittsdaten eignen sich für eine übersichtliche Darstellung, doch machte die Einzelbetrachtung der Termine im Saisonverlauf deutlich, dass eine klare saisonale Tendenz aufgrund vereinzelter Schwankungen der Ergebnisse nicht zu erkennen war (Tab. 12.1 bis Tab. 12.5). Der Versuch zeigte, dass bei der Evaluierung von Umwelteinflüssen auf bioaktive Substanzen in den Früchten verschiedene Faktoren berücksichtigt werden müssen. Dabei können viele Wirkungsweisen im Freiland nicht individuell erfasst werden. So waren hohe Temperaturen häufig mit einer höheren Einstrahlung verbunden und konnten aus diesem Grund nicht

von letzterer getrennt beurteilt werden. Neben der Fruchtgröße spielte vermutlich auch die Dauer der Reifung und die damit verbundene Biosynthese einzelner Phenole in den jeweiligen Reifestadien eine Rolle. Diese Reifeabhängigkeit des Flavonoidmetabolismus und die Verbindung der phenolischen Substanzen zueinander erschwert es, Rückschlüsse auf potentielle Einflussfaktoren zu ziehen.

Insgesamt ist festzuhalten, dass während der Saison einzelne phenolische Inhaltsstoffe z. T. über dreifache Unterschiede zwischen den Extremwerten aufwiesen (Tab. 12.1 und Tab. 12.5). Die antioxidative Kapazität hingegen variierte maximal nur um das 1,4-Fache (Tab. 12.2) und die Summe der anteilig wichtigsten antioxidativen Substanzen (Vitamin C, Ellagttannine, PAC und Anthocyane) sogar nur um das 1,2-Fache (Tab. 12.3). Die mittleren Gehalte der Monate Juli, August und September wiesen hingegen eine hohe Konstanz auf. So unterschied sich die Summe zwischen Juli und September nur um 8 % (Abb. 5.8 bis Abb. 5.11). Um die vorliegenden Ergebnisse bestätigen zu können, sollte der Versuch wiederholt werden, damit Schwankungen stärker kompensiert werden können. Weiterhin könnten Variationen, die bedingt durch kurzfristige Wettereinflüsse auftreten, durch eine Verkürzung der Probenahmeintervalle ausgeglichen werden. Eine Aussage bezüglich gesundheitlicher Vor- oder Nachteile auf den menschlichen Organismus, von Erdbeeren aus unterschiedlichen Saisonabschnitten ist auf Grundlage dieser Studie derzeit nicht möglich.

6

A comparison of bioactive compounds of strawberry affected by genotype and latitude

Original-Publikation:

Dieses Kapitel erschien im
Journal of Berry Research (2012), 2
S. 75–93

von Melanie Josuttis, Christoph Carlen, Pamela Crespo, Rolf Nestby,
Torben B. Toldam-Andersen, Helmut Dietrich und Erika Krüger

Reprinted with permission

Eigene Leistung:

Hauptverantwortlichkeit der Versuchsbetreuung am Standort Geisenheim,
chemische Analyse und Datenauswertung aller Standorte, schriftliche Abfassung der Publikation

A comparison of bioactive compounds of strawberry fruit from Europe affected by genotype and latitude

M. Josuttis^a, C. Carlen^b, P. Crespo^b, R. Nestby^c, T.B. Toldam-Andersen^d, H. Dietrich^e and E. Krüger^{f,*}

^aRheinMain University of Applied Sciences, Geisenheim, Germany

^bAgroscope Changins-Wädenswil, Research Station ACW, Changins-Wädenswil, Switzerland

^cBioforsk, Grasland and Landscape Division Kvithamar, Stjørdal, Norway

^dDepartment of Agricultural Sciences, Copenhagen University, Copenhagen, Denmark

^eGeisenheim Research Center, Department of Wine Analysis and Beverage Research, Geisenheim, Germany

^fGeisenheim Research Center, Department of Pomology, Geisenheim, Germany

Received 25 August 2011; accepted 20 November 2011

Abstract. The effect of four different growing locations from Stjørdal, Norway (63°36'N) to Conthey, Switzerland (46°12'N) on the composition of bioactives in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) of three genotypes (cvs Clery, Elsanta and Korona) was evaluated. Principal component analysis (PCA) was used to characterize differences in bioactives between genotypes within a location. Despite harvest period and year-to-year effects, a clear clustering related to the effects of the cultivars was shown. Furthermore, PCA was able to separate locations within a cultivar due to differences in bioactive compounds and this effect was stronger than local variations by temporary weather changes or even year-to-year effects. As a result, the northern samples had principally lower anthocyanin amounts than the southern ones and, moreover, distribution of individual anthocyanins was different. In contrast, the content of vitamin C and the antioxidant capacity (TEAC, ORAC, total phenols) was generally increased with higher latitudes calculated on a fresh weight basis. Results of proanthocyanidins and individual polyphenols detected by high performance liquid chromatography indicated that the higher contents were mainly due to tannin-related components. For all these observations, cultivars responded in general similarly. A North-South division was identified but no clear trend towards latitude could be recorded, mainly since one major impact factor for the biosynthesis of phenolics and ascorbic acid is temperature, which is altering not only by latitude, but also by the shift of the harvest period and the current weather conditions prior to harvest. In conclusion, genetic effects were generally stronger than environmental effects.

Keywords: *Fragaria x ananassa*, anthocyanins, environment, antioxidant activity, polyphenols, vitamin C

1. Introduction

Strawberry is the most important berry crop in Europe [3]. The fruit is not only a rich source for ascorbic acid, but also for a diversity of polyphenols including anthocyanins, phenolic acids, flavonols, flavanols, ellagitannins or proanthocyanidins [1, 8]. A number of epidemiological studies showed that these components may play a significant role due to their antioxidant capacity in the prevention of degenerative diseases such as cancer or cardiovascular burden

*Corresponding author: Erika Krüger, Geisenheim Research Center, Department of Pomology, Von-Lade-Str. 1, 65366 Geisenheim, Germany. Tel.: +49 672250563; Fax: +49 6722502560; E-mail: Krueger@fa-gm.de.

[16, 41, 46]. Internal and external factors as cultivar and environment contribute to the content and composition of these secondary plant metabolites in the fruit [4, 5, 8, 11, 34, 40, 45]. Until now, little is known about variability in health-promoting substances in berry fruit affected by growing locations at different latitudes [20]. Strawberries are produced in almost all parts of Europe differing in harvest season, locally adapted cultivars and cultivation systems [14]. The main environmental effects changing with latitude are the temperature and the day length including light quality as well as quantity of the solar radiation. Earlier studies showed that high temperature during fruit development increases the content of several bioactives in strawberry and raspberry [21, 37, 49], whereas results connected to the impact of light are scarce and limited to UVB radiation [22, 32] and shading [4]. These results indicated that the content of bioactives may decrease in strawberries from northern parts of Europe due to low temperatures. The aim of our study was to evaluate the differences of four growing locations with a distance of more than 2000 km located from Norway to Switzerland with respect to the impact of genotype, harvest period, and year.

2. Materials and methods

2.1. Field experiments and climatic data

The trial was conducted in 2008 and 2009 at the locations Stjørdal, Norway = N (63°36'N), Geisenheim, Germany = D (49°59'N), and Conthey, Switzerland = CH (46°12'N). In 2009, strawberries were also collected in Copenhagen, Denmark = Dk (55°40'N). At each side, strawberries were purchased from local nursery companies and cultivated typically for the mentioned growing regions as described by Krüger et al. [24]. The experiments were carried out under open-field conditions using three June-bearing strawberry cultivars (*Fragaria x ananassa* Duch.); cv. Elsanta was grown as standard at all locations. Additionally, cv. Korona as cultivar adapted to the Northern European climate conditions was planted at the northern regions (N, DK, D) and cv. Clery was cultivated at the southern ones (D, CH) as cultivar with major importance in Central and Southern Europe. The experimental set up at the different locations involved three replications with 15 to 40 plants per plot. On all areas air temperature and photosynthetically active radiation (PAR) were measured and calculated during the fruit development period starting 28 days before the first harvest sampling (Table 1).

2.2. Sampling and sample preparation

Three independent biological replications were collected at the second and third week of the harvest period at each location per cultivar. All samples contained not less than 500 g of non-damaged and healthy fruit including green

Table 1
Growing conditions of the different locations 28 days prior to first picking^a

Origin	Norway		Denmark	Germany		Switzerland	
	2008	2009	2009	2008	2009	2008	2009
Latitude	63°36'N		55°40'N	49° 59'N		46° 12'N	
Soil type	Silty loam		Sandy loam	Sandy loam		Sandy loam	
Day length at harvest begin [h]	20.3		17.5	15.8		15.1	
Sum PAR per day [mol m ⁻² d ⁻¹]	46.0 a	42.2 a	24.7 b	28.2 b	31.4 b	45.9 a	41.7 a
Begin of flowering	26.05	04.06	11.05	26.04	16.04	25.04	17.04
Harvest begin	03.07	03.07	16.06	27.05	18.05	16.05	18.05
	Daily temperature						
Mean [°C]	13.8 d	15.9 bcd	14.2 cd	19.2 a	16.3 bc	17.1 ab	17.4 ab
Min [°C]	8.9 cd	10.6 bc	9.8 bcd	13.8 a	8.3 d	11.1 b	11.0 b
Max [°C]	18.1 c	20.9 bc	18.4 c	25.2 a	24.0 ab	23.0 ab	24.1 ab

^aMeans within the same row followed by different letters were significantly different at $p < 0.05$ (Tukey's test).

calyx. Each fruit was sliced and shock frozen in liquid nitrogen as previously described by Josuttis et al. [22] and milled to powder later. The frozen powder from all locations was sent on dry ice to the Geisenheim Research Center, where the following analysis were performed as reported [22].

2.3. Quality attributes: Soluble solids content (SSC), titratable acidity (TA), and dry matter (DM)

After thawing the frozen strawberry powder, the resulting puree was directly measured with a digital refractometer (A. Krüss Optotronic GmbH, Hamburg, Germany) for soluble solids content (SSC). The dry matter (DM) content was determined by mixing the powder (5 g) with sea sand and drying for 4 h hours at 103°C. For the determination of titratable acidity (TA) five grams of powder was homogenized in 50 mL water, equilibrated for one hour and titrated with 0.33 mol L⁻¹ sodium hydroxide solution to a pH value of 8.1. All results were expressed as % of fresh weight.

2.4. Ascorbic acid (AA)

Due to high ascorbic acid (AA) contents in strawberry fruit it was possible to determine the concentration by iodometric titration adapted to Ballentine [6] and Matissek and Steiner [28]. Therefore, the frozen strawberry powder (5 g) was extracted twice with 10 mL of 2% oxalic acid (w/v), centrifuged, the collected supernatants were acidified with 10% sulfuric acid (v/v), and immediately titrated potentiometrically with 1/128 mol L⁻¹ iodide-iodate-solution. Results were calculated as µg AA per g fresh weight.

2.5. Antioxidant capacity: Total phenols (TP), trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC), and oxygen radical absorbance capacity (ORAC)

All parameters were analysed from the methanolic extracts as previously described [22]. Briefly, frozen strawberry powder (5 g) was extracted twice ultrasound-assisted for 30 min with 80% methanol. Total phenols (TP) were analysed by Folin-Ciocalteu method as gallic acid equivalents (GAE) according to Singleton et al. [42]. Therefore, the diluted extract was mixed with Folin-Ciocalteu reagent and after five minutes saturated sodium carbonate solution was added. The absorbance was measured after 60 min at 760 nm. Results were expressed in µg GAE per g fresh weight. The TEAC value was determined according to Re et al. [36]; thus an ABTS [2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)] radical cation solution was generated overnight with potassium persulfate and a final absorbance of 0.800 ± 0.050. This solution was mixed in a ratio of 1 : 5 with the diluted extracts. The absorbance was measured after 6 min at 734 nm. The ORAC assay was carried out using fluorescein and a black 96-well plate according to Ou et al. [33] and Huang et al. [19]. The analysis was carried out on a black 96-well plate with a microplate reader (Infinite M200, Tecan). Each well was filled with a 20 µL diluted sample, blank or Trolox standard and 120 µL of fluorescein. After 5 min incubation 60 µL of AAPH-solution was added. The fluorescence was recorded every minute for 90 min at 37°C with an excitation wavelength of 485 nm and an emission wavelength of 520 nm. The ORAC values refer to the net area under the quenching curve and were calculated after linear regression of the AUC. The ORAC as well as the TEAC results were expressed as trolox equivalents (TE) in µg per g fresh weight.

2.6. Total monomeric anthocyanins (TMA)

Total monomeric anthocyanins were analysed by the pH differential method. The above mentioned methanolic extracts were diluted with two buffers in a ratio of 1 : 10 (v/v) at pH 1 with 0.025 mol L⁻¹ potassium chloride buffer and at pH 4.5 with 0.4 mol L⁻¹ sodium acetate buffer. The diluted sample was measured at a wavelength of 500 nm and 700 nm. The results were calculated with a molar absorption coefficient of 15.600 L mol⁻¹ cm⁻¹ as pelargonidin 3-glucoside in µg per g fresh weight [12].

2.7. Proanthocyanidin (PAC) content

The content of proanthocyanidins (PAC) was determined colorimetrically using 0.1% (w/v) 4-dimethylaminocinnamaldehyde (DMAC; Agros Organics, Geel, Belgium) according to Prior et al. [35].

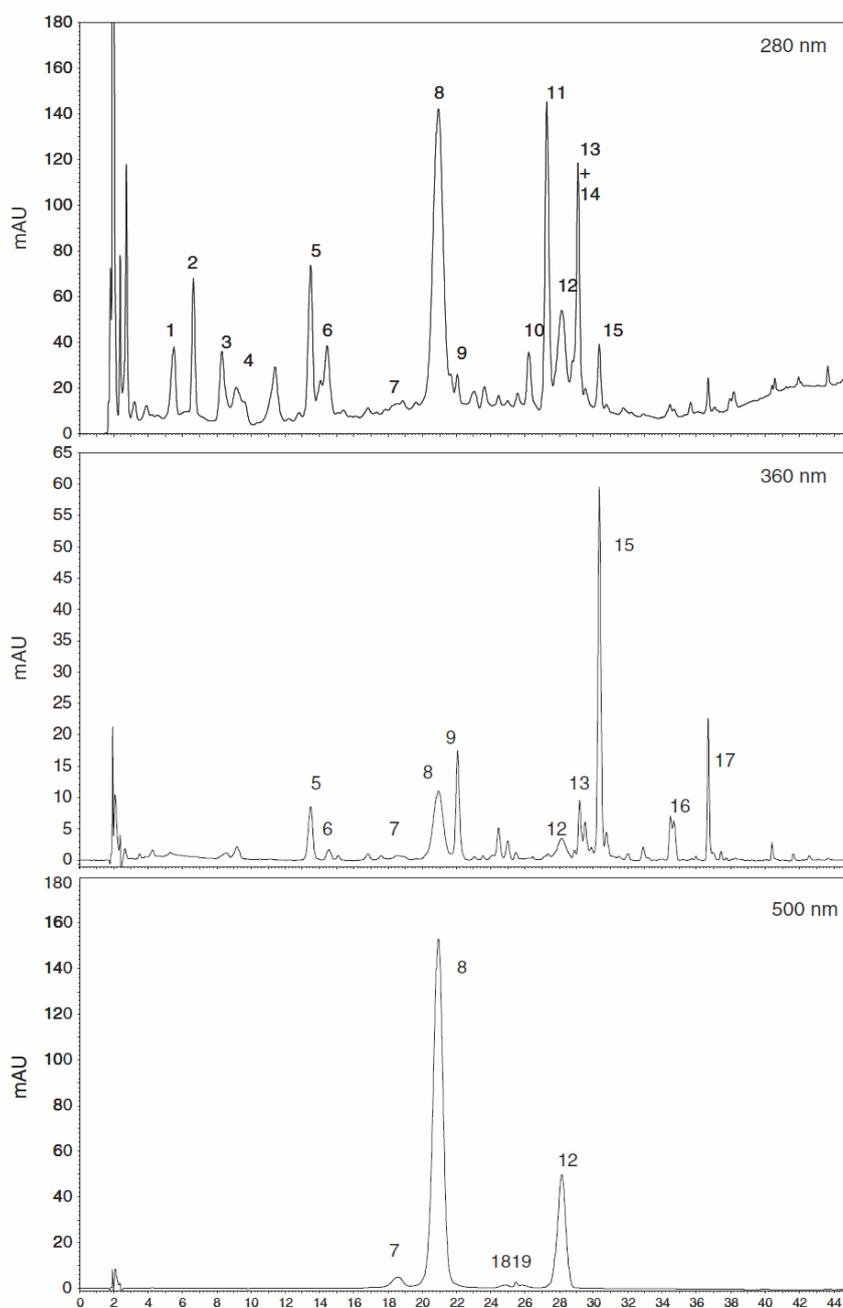


Fig. 1. HPLC chromatograms of phenolic compounds obtained at 280, 360, and 500 nm (cv. Elsanta). Peaks: 1=unknown1, 2=unknown2, 3=galloyl bis HHDP-glucose, 4=proanthocyanidins, 5=*p*-coumaroyl glucose (*p*-COUM-GLU), 6=*p*-coumaroyl glucose derivative (*p*-COUM-GLU derivative), 7=cyanidin 3-glucoside (CYA 3-GLU), 8=pelargonidin 3-glucoside (PEL 3-GLU) 9=ferulic acid derivative, 10=ellagitannin1 (ET_1), 11=ellagitannin2 (ET_2), 12=pelargonidin 3-malonylglucoside (PEL 3-GLU-MAL), 13=ellagic acid derivative (EA-derivative), 14=ellagitannin3 (ET_3), 15=quercetin 3-glucuronide (QUER 3-GLC), 16=kaempferol 3-glucoside and kaempferol 3-glucuronide (KAE 3-GLU), 17=kaempferol 3-malonylglucoside (KAE 3-GLU-MAL), 18=cyanidin 3-malonylglucoside (CYA 3-GLU-MAL), 19=pelargonidin 3-derivative (PEL derivative).

Diluted samples were mixed in a ratio of 1 : 4 with a solution of 0.1% DMAC solved in 50% of ethanol (v/v) and acidified with hydrochloric acid. The absorbance of this mixture was measured after 30 min at 640 nm and calculated as catechin (CAT) equivalents in μg per g fresh weight.

2.8. High-performance liquid chromatography (HPLC) analysis of individual phenolics

For separating and quantifying individual phenolics, HPLC analysis was performed with the prepared methanolic extracts using a ThermoFinnigan Surveyor HPLC system coupled with a photodiode array detector (PDA), pump, and autosampler controlled by Chromquest 4.1 software. The sample was injected using a Reprosil-PurC18AQ (Dr. Maisch GmbH, Ammerbuch-Entringen, Germany) column (150×2 mm, $3 \mu\text{m}$). Eluent A was 2% acetic acid and Eluent B contained acetonitrile/water/acetic acid (50/49.5/0.5) according to the following gradient: 0–31.5 min, 55% B; 31.5–37.5 min, 100% B; 37.5–41.0 min, 10% B with a flow of $200 \mu\text{L min}^{-1}$ and an equilibration time of 10 min. The three channels 280 nm, 360 nm, and 500 nm were scanned and the main phenolic substances (Fig. 1) were calculated with available standards and expressed as μg per g fresh weight (Tables 2, 3).

2.9. Determination of ellagic acid after methanolic hydrolysis

Conjugated ellagic acid and ellagitannins were analysed after hydrolysis as ellagic acid equivalents. Frozen strawberry powder (1.5 g) was suspended with 5 mL of 50% methanol containing 1.2 mol L^{-1} hydrochloric acid and incubated at 80°C for 8 h according to Häkkinen et al. [13]. The hydrolyzed extract was made-up to final volume of 10 mL in a volumetric flask, filtrated, and analysed with the same HPLC system as described above on an ODS-A (Dr. Maisch GmbH, Ammerbuch-Entringen, Germany) column (125×2 mm, $5 \mu\text{m}$). The mobile phase was 5% formic acid (A) and methanol (B) according to the following gradient: 0–25 min, 50% B; 25–37 min, 90% B; 37 min–39 min; 10% B; 39 min–46 min, 10% B with a flow of $200 \mu\text{L min}^{-1}$. The amount of ellagic acid was calculated at a wavelength of 255 nm and given in μg per g fresh weight.

2.10. Statistical analysis

The data were analysed statistically with analysis of variance using SPSS version 17. The means of all samples at each harvest were compared with Tukey's test or Tamhane's test to calculate significant differences ($P \leq 0.05$, Tables 2–4). For the latter, homogeneity of variances is not necessary. In order to improve the clarity of the results and to understand the relationship of this data set a principal component analysis (PCA) was performed with XLSTAT 2010 including the bioactive compounds (Figs. 2, 4–7). In this way, the influence of all parameters can be illustrated simultaneously. For this reason, the score plot was used to display the distribution of samples of the data set and the loading plot to explain a possible grouping of samples and, furthermore, to show importance and interactions of the variables. To provide comparable weights for all parameters, all obtained data were autoscale-preprocessed. Therefore, each variable was mean centered and variance was scaled to unity. For PCA, ascorbic acid (AA), total monomeric anthocyanins (TMA), total phenols (TP), TEAC, ORAC, ellagic acid (EA) after hydrolysis, proanthocyanidins (PAC) and the main peaks of the HPLC analysis (peak no. 1, 2, 5–8, 11, 16, 17 in Fig. 1) were considered. To avoid an overweight of anthocyanins, only the results of the individual anthocyanins pelargonidin 3-glucoside, as the main pelargonidin related anthocyanin and cyanidin 3-glucoside, as the main cyanidin related anthocyanin, were integrated.

3. Results and discussion

3.1. Effect of genotype, harvest period, and year on bioactive components

Different genotypes are distinguished not only by plant performance, yield and fruit quality [24], they can as well be classified by their bioactives [8–10, 44]. For all detected parameters a significant effect of the cultivar was detected (Tables 2–4). Principal component analysis (PCA) was used to characterize three cultivars grown in Germany sampled

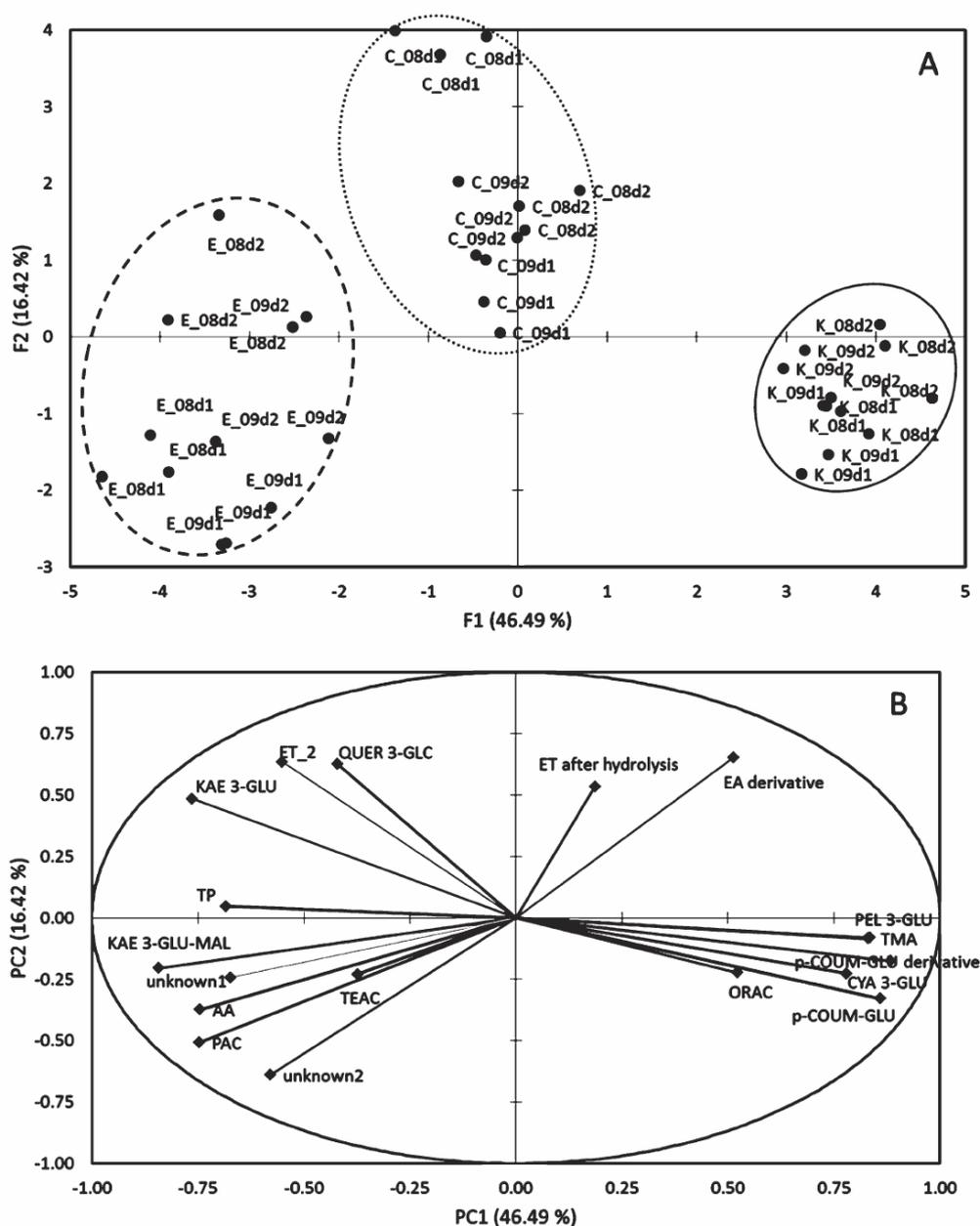


Fig. 2. Principal component analysis (PC1 and PC2) of three different cultivars grown in Germany displayed in the score plot (A) characterized by bioactive components shown in the loading plot (B). Kaempferol 3-glucoside includes kaempferol 3-glucuronide. Abbreviations used – cultivars: E, Elsanta; C, Clery; K, Korona. The number indicates the experimental year 08 for 2008 and 09 for 2009. The ending _d1 indicates the sampling during the harvest period in week 1 and _d2 the sampling in week 2 of the harvest period. All other abbreviations see legend Fig. 1.

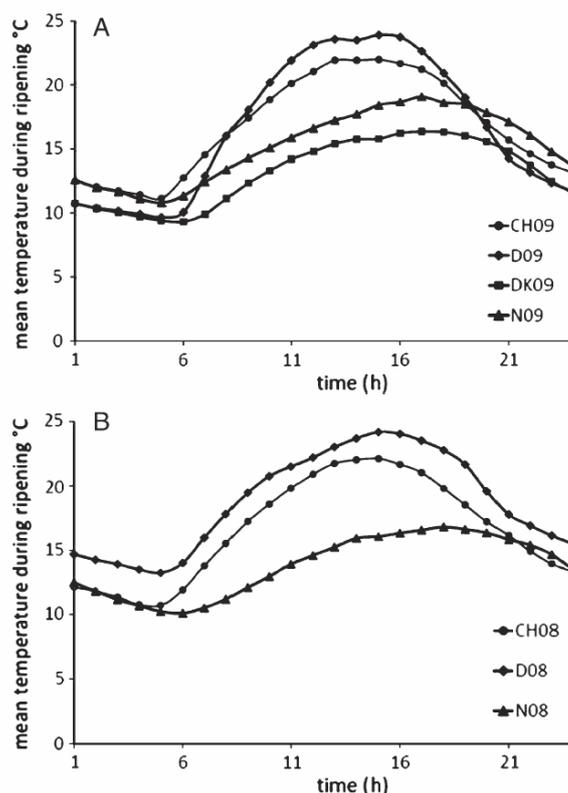


Fig. 3. Average daily temperature profile at the different locations using the hourly mean temperature during ripening (28 days before first picking) in 2008 (A) and 2009 (B). D, Germany; CH, Switzerland; DK, Denmark; N, Norway.

at four dates in two years (Fig. 2). A clear clustering of these samples by the three genotypes was achieved (Fig. 2A). The separation was mainly due to principal component (PC) 1 with an explanation of 49.49%. The main differences of the cultivars occurred among cv. Korona and cv. Elsanta. In fact, cv. Clery was located between these two cultivars, but showed more similarities to cv. Elsanta than to cv. Korona. This observation agrees with the genetic background of the cultivars since cv. Elsanta is one parent of cv. Clery (Breeder: Consorzio Italiano Vivaisti). Cultivar Korona was specified by increased ORAC levels, whereas cv. Elsanta was more characterized by a high antioxidant capacity using TP or TEAC assay. Throughout this cultivar dependent comparison, cv. Korona was described by the anthocyanin contents like pelargonidin 3-glucoside and cyanidin 3-glucoside and by the phenolic acid *p*-coumaroyl glucose, containing around 80% (33%) more pelargonidin 3-glucoside than cv. Elsanta (Clery). The amount of cyanidin 3-glucoside was about 6-fold higher than of the other two cultivars and the level of *p*-coumaroyl glucose was twice as high (Table 3). These substances were linked to the antioxidant capacity measured by ORAC. *p*-Coumaroyl glucose and anthocyanins have in common, that they are, in contrast to other flavonoids, accumulated very late during the fruit development at the turning ripening stage from white to red [9]. However, cv. Elsanta was better described by PAC and ascorbic acid, which were associated to TEAC and TP. Furthermore, the flavonol quercetin 3-glucuronide and all analysed kaempferols were linked to the latter and played a major role in characterizing the cvs Elsanta and Clery. PC2 explained 16.42% of the data and described primarily the variation of harvest period and year. In several publications, a year-to-year effect is mentioned [45]. In the present study the day of sampling during the harvest period within one year affected the composition of bioactives to some extent similarly strong as the year (Tables 2–4, Fig. 2A). Regarding the distribution of the samples no clear trend was notable: More exactly, a general rule of effects by sampling year or first and second sampling during the harvest period could not be established. This result was also

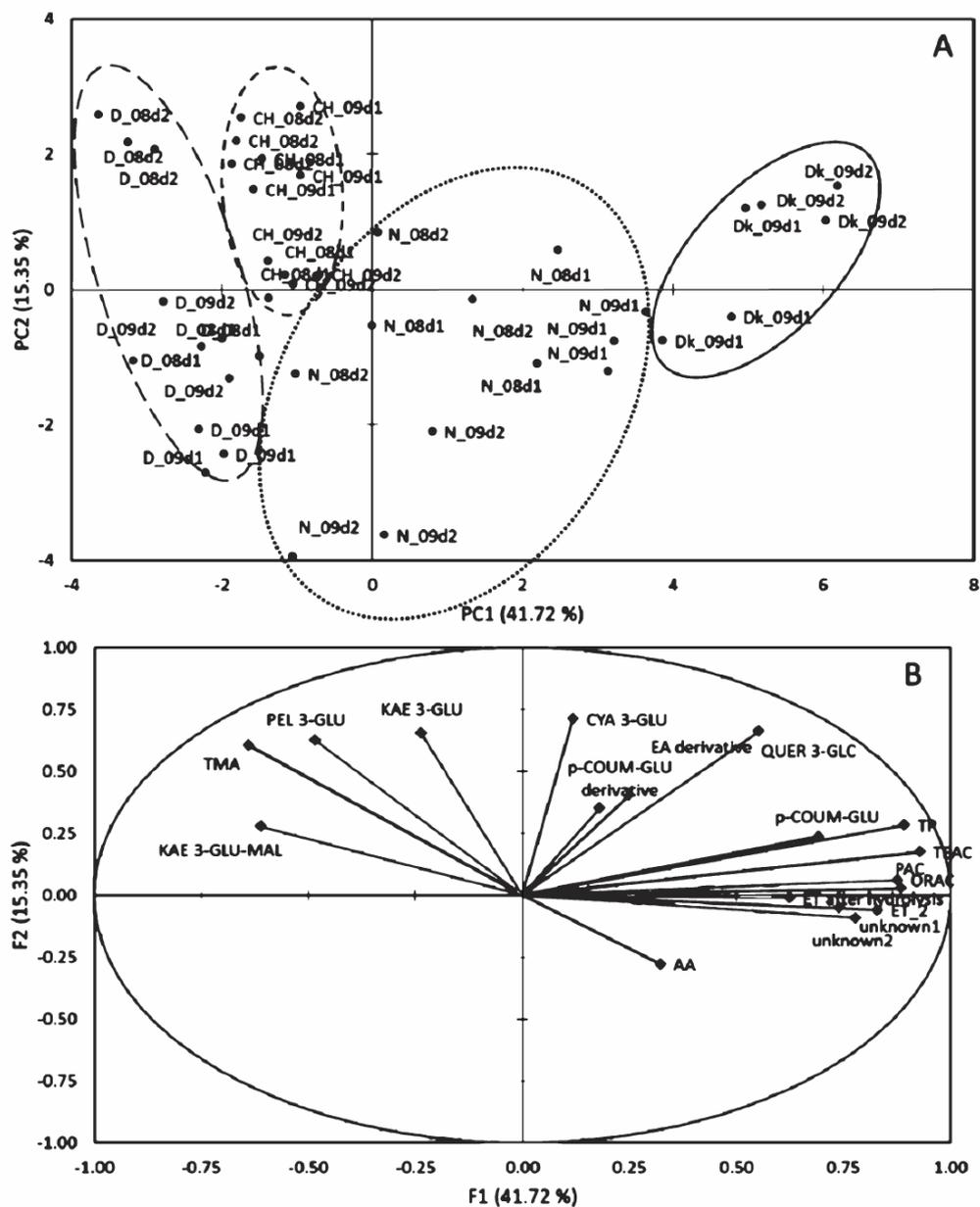


Fig. 4. Principal component analysis (PC1 and PC2) of cv. Elsanta grown at four different locations (D, Germany; CH, Switzerland; Dk, Denmark; N, Norway) displayed in the score plot (A) characterized by bioactive components shown in the loading plot (B). Kaempferol 3-glucoside includes kaempferol 3-glucuronide. The number indicates the experimental year 08 for 2008 and 09 for 2009. The ending _d1 indicates the sampling during the harvest period in week 1 and _d2 the sampling in week 2 of the harvest period.

confirmed by data from the other locations (Figs. 4A, 5A). In fact, from beginning to the end of the harvest different proportion of primary and secondary fruit arise [10]. Although fruit order affects the content of bioactives [4, 31], the present study showed according to the previously mentioned result that this influence is compared to other factors such as genotype and environment of minor importance. Accordingly, short-term weather changes could be sufficient affecting the biosynthesis of bioactives.

3.2. Environmental impact on bioactives of strawberry fruit

3.2.1. Growing conditions of strawberries at different latitudes

The growing conditions of the different locations and the effects on harvest period, growth, yield, and fruit quality of strawberry such as firmness, soluble solids content, total acidity were discussed in detail throughout the connected publication by Krüger et al. [24]. Therefore, the main characteristics of the growing locations will be mentioned herein only briefly. The four sites were located in a distance of 17 degrees of latitude. The beginning of flowering and the harvest period started later at the northern locations, which resulted in an extended day-length during the harvest periods (Table 1). However, no direct relation was observed considering the day-length and PAR values of the locations (Table 1). The average annual temperature of the different locations was lower with higher latitude causing a delay of harvest season [24]. As a result, the mean temperature and the current weather during the fruit maturation were not directly dependent by the degree of latitude (Table 1, Fig. 3). The northern and southern locations differed in the daily temperature profiles during the ripening process (Fig. 3). Whereas the southern locations have a steep curve progression with a daily maximum at the early afternoon, moreover, the daily maximum temperature was reached later. The daily temperature profile at the northern locations was shallower because of minor temperature differences during the day.

3.2.2. Latitude contribute to the composition of bioactives

The growing location affected the content of several bioactives in strawberries. Plants of cv. Elsanta were grown at all locations and a comparison of strawberry fruit samples from four different origins was possible. Likewise, PCA was used to characterize the influence of latitude and the result were displayed by PC1 and PC2 explaining 57.07% of the data (Fig. 4). PC1 (41.72%) was mainly responsible for the separation by origin, whereas PC2 explained the distribution of year and harvest period by only 15.35%. This indicated that latitude had a stronger impact on bioactives than local and temporary weather changes or even year-to-year differences. The major differences were observed between samples from Germany and Denmark. During ripening, the daily sum of PAR was not different for these two locations, but the temperature in Denmark was lower than in Germany (Fig. 3, Table 1). The samples from Norway were located between these two clusters and showed the highest variation among the observations affected by harvest period and experimental year (Fig. 4). Furthermore, minor homogeneity of the three replications within this cultivar existed for the Norwegian samples compared to the other origins, which was shown by the distance of the observations (Fig. 4). In contrast, the temperature at the two locations was similar. It could be concluded by the assessment of these environmental factors that the effect of PAR was less important. The Swiss and German samples were located very close, although the average sum of daily PAR during ripening was higher in Switzerland than in Germany (Table 1). On the one hand the Swiss and German samples were very similar despite different PAR values and on the other hand German and Danish samples showed overall the greatest differences although PAR values were very similar.

The content of total anthocyanins was one factor to segregate the samples of different locations. The southern fruit samples contained more total anthocyanins than the northern ones (Table 2, Fig. 4). As expected, the total anthocyanin content was strongly related to the major anthocyanin pelargonidin 3-glucoside, however, no or only a weak interaction with cyanidin 3-glucoside was observed for samples of cv. Elsanta (Fig. 4). In addition, the content of total anthocyanins was connected to the kaempferol content. The northern samples were directed to a high antioxidant capacity measured using all three assays TEAC, ORAC, and TP. As shown in Fig. 4, this effect was related to the contents of PAC, ellagitannis, *p*-coumaroyl glucose, quercetin 3-glucuronide, and two unknown components (peak 1 and 2 in Fig. 1). For the Danish samples only one-year results were available, which showed for cv. Elsanta the highest contents in antioxidant capacity and tannin-related components like PAC and ellagitannis determined after hydrolysis (Table 3). The samples from cooler regions contained generally higher ascorbic acid levels (Fig. 4,

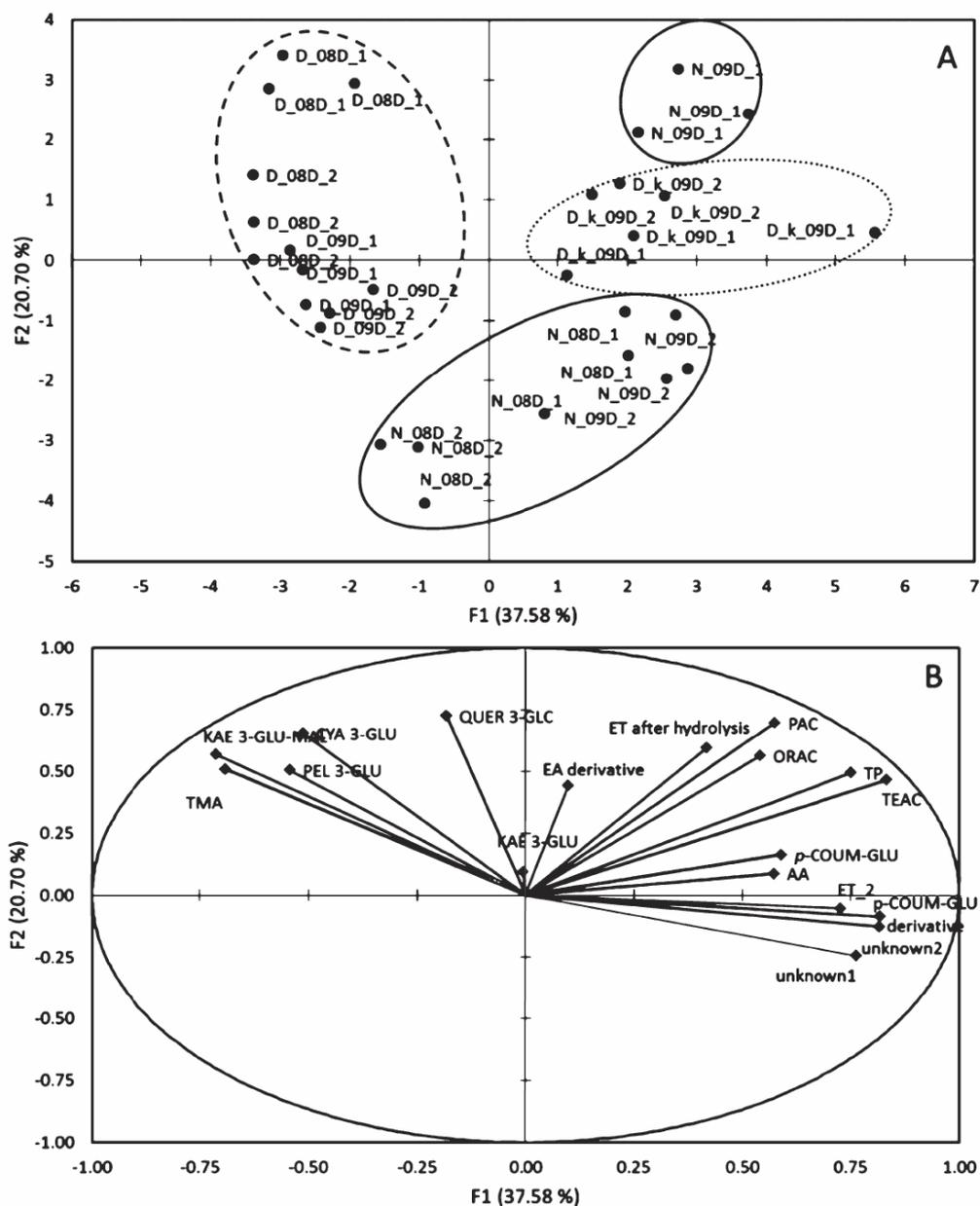


Fig. 5. Principal component analysis (PC1 and PC2) of cv. Korona grown at three different locations (D, Germany; Dk, Denmark; N, Norway) displayed in the score plot (A) characterized by bioactive components shown in the loading plot (B). Kaempferol 3-glucoside includes kaempferol 3-glucuronide. The number indicates the experimental year 08 for 2008 and 09 for 2009. The ending _d1 indicates the sampling during the harvest period in week 1 and _d2 the sampling in week 2 of the harvest period.

Table 4). Regarding only one of the mentioned parameter, a location effect was notable, but this effect was masked due to high variation of harvest period and year (Tables 2–4).

Principal component analysis (PCA) of cv. Korona were displayed by PC1 and PC2 explaining 58.28% of the data (Fig. 5). The samples were clustered by origin, but additionally, strongly by the year. Especially the Norwegian samples showed a high variation within the harvest period and years and were thus not completely distinguishable from the Danish samples. Nevertheless, a north (Dk, N) to south partition (D) was observed (Fig. 5) by PC1 explaining 37.58% of the data. The data were splitted because of their contents of anthocyanins and kaempferol 3-malonylglucoside. In contrast to the previous cv. Elsanta, the anthocyanin cyanidin 3-glucoside was definitely related to the content of total anthocyanins and pelargonidin 3-glucoside for cv. Korona. However, in agreement with the results of cv. Elsanta, cyanidin 3-glucoside and quercetin 3-glucoside were connected (Fig. 5). The impact of kaempferol 3-glucoside was very low, possibly due to low contents of cv. Korona compared to the other cultivars (Table 3). As well as for cv. Elsanta, it was confirmed that fruit of cv. Korona from the northern regions tended to elevated ascorbic acid and *p*-coumaroyl glucose levels. Antioxidant capacity determined by TP, TEAC, and ORAC was linked to the contents of PAC, ellagitannins, and the two unknown components (peak 1 and 2 in Fig. 1).

The third analysed cv. Clery was not discriminable by the origin. Precisely, the variability of the yearly means was stronger than potential latitude effects (Tables 2–4). The yearly mean values showed that the Swiss and German samples were very similar for all analysed parameters although the PAR values differed greatly. Hence, cv. Clery was less sensitive to environmental changes than cv. Elsanta, which is discussed below and fits to recent studies [10].

Finally, the result indicated that putative impact factors such as origin of plant material, soil composition or precipitation are minor contributors on bioactives compared to the influence of genotype and latitude. Indeed, several earlier studies showed that environmental effects especially cultivation techniques can affect bioactives in fruit significantly [4, 18, 21, 30, 31, 48–50], however, the sampling and year-to-year effect can be in many cases more pronounced than cultivation effects which was predominantly not considered by these studies. The effect of sampling and year is mentioned, but has not yet been evaluated in detail [22, 23, 45].

The above presented results showed the effect of genotype at one location and the one of location for one genotype. In the following the impact of latitude and genotype on bioactives was assessed by analysing two genotypes from two sites (Figs. 6, 7). It was shown that the effect of genotype was stronger than the location effect. Figure 6 showed a PCA of the cvs Korona and Elsanta from Norway and Germany. The cultivar differences were explained by PC1 (44.34%) due to variations in the contents of anthocyanins, *p*-coumaroyl glucose, PAC, ascorbic acid, and flavonols. The two cultivars were clearly distinguished, but responded similarly; PC2 (21.90%) was mainly responsible for the location effects. The Norwegian samples were located at the positive scale of PC2 and the German ones at the negative scale (Fig. 6) with weak interferences. Antioxidant capacity (TEAC, TP, ORAC), ellagitannins, PAC, and the unknown components were increased in the northern fruit samples (Table 3). Interestingly, the ORAC value was linked to these parameters and, not like described above, responsible for the separation of the two cultivars (Fig. 2). Additionally, sample variation at both sites was comparable regarding the two cultivars and was lower among the German observations (Fig. 6).

A comparison of cvs Clery and Elsanta at the locations Germany and Switzerland was shown in Fig. 7. These two cultivars were, as described above, more similar than the cvs Elsanta and Korona. The cultivar effects were caused by the PC1 as well, but described the data set only by 31.51%, which could be explained by a greater similarity of these two cultivars. Cv. Clery was characterized by higher contents of anthocyanins, ellagic acid derivatives and ellagitannins after hydrolysis, whereas cv. Elsanta showed higher levels of PAC and ascorbic acid. For cv. Elsanta the two sites Germany and Switzerland differed particularly due to antioxidant capacity (TEAC, ORAC, total phenols), *p*-coumaroyl glucose, and pelargonidin 3-glucoside (Fig. 7, Tables 2, 3).

A recently published review by Jaakola and Hohtola [20] focused on the effect of latitude on flavonoid biosynthesis with the result of an existing lack of knowledge to this topic. Most publications were focused on single effects of light or temperature or different genotypes were compared for different latitudes [2, 25, 34, 38]. An interesting comparison was done during a developmental study at two locations in Italy with the same strawberry genotypes [9]. As a result, the main differences of origin were observed in the contents of proanthocyanidins and flavonols, but in this framework no climate data was considered. Our study showed that bioactives were affected by the location including a strong dependence of temperature. However, the importance of location was clearly less important than the genetic background (Figs. 6, 7).

Table 2
Anthocyanin levels in three cultivars from three different locations^a

Origin	Year	Date	CYA 3-GLU ^b ($\mu\text{g g}^{-1}$)	PEL 3-GLU ^c ($\mu\text{g g}^{-1}$)	PEL 3-RUT ^c ($\mu\text{g g}^{-1}$)	PEL derivative ^c ($\mu\text{g g}^{-1}$)	CYA 3-GLU-MAL ^b ($\mu\text{g g}^{-1}$)	PEL 3-GLU-MAL ^b ($\mu\text{g g}^{-1}$)	SUM ANTHO CYANINS ($\mu\text{g g}^{-1}$)
cv. Elsanta									
N	2008	1	9.3 ± 1.2 ef	159.3 ± 18.8 n	nd	0.8 ± 0.1 lmno	1.3 ± 0.5 ijk	24.7 ± 4.5 lm	195.4 ± 22.5 op
		2	8.5 ± 2.7 fg	171.2 ± 18.6 mn	nd	1.0 ± 0.1 jlmno	1.3 ± 0.9 ijk	30.2 ± 3.3 i	212.2 ± 21.5 no
	2009	1	5.2 ± 0.8 ghij	126.9 ± 4.5 o	nd	0.5 ± 0.1 nop	0.8 ± 0.1 kl	30.3 ± 2.2 i	163.6 ± 5.8 p
		2	2.7 ± 0.1 jk	158.8 ± 19.4 n	nd	0.6 ± 0.1 mnop	1.0 ± 0.2 jkl	30.5 ± 5.1 i	193.7 ± 24.6 op
Dk	2009	1	8.0 ± 1.1 fgh	145.3 ± 19.1 no	nd	0.3 ± 0.1 p	0.8 ± 0.3 kl	20.5 ± 3.8 m	174.9 ± 23.0 p
		2	8.9 ± 0.9 fg	191.5 ± 9.1 lm	nd	0.4 ± 0.2 op	1.0 ± 0.1 jkl	28.8 ± 1.4 i	230.5 ± 9.6 n
D	2008	1	4.9 ± 0.5 ghij	190.1 ± 7.4 lm	nd	1.1 ± 0.1 ijklmn	0.4 ± 0.1 i	45.3 ± 8.2 k	241.9 ± 15.4 n
		2	9.6 ± 1.1 ef	240.8 ± 2.4 hij	nd	1.9 ± 0.5 ghi	3.4 ± 0.6 ef	83.7 ± 1.0 def	339.4 ± 3.1 hijk
	2009	1	3.7 ± 0.4 ijk	187.2 ± 10.4 lm	nd	1.2 ± 0.2 ijklmn	0.4 ± 0.1 i	51.8 ± 2.5 ijk	244.1 ± 13.2 n
		2	4.4 ± 0.7 hijk	213.4 ± 32.7 jkl	nd	1.3 ± 0.4 ijklm	0.7 ± 0.2 kl	59.8 ± 2.9 hi	279.6 ± 33.7 m
CH	2008	1	8.6 ± 3.3 fg	231.0 ± 7.6 ijk	nd	1.8 ± 0.3 ghi	2.5 ± 0.5 fg	64.3 ± 1.8 gh	308.2 ± 9.5 klm
		2	13.8 ± 0.6 d	270.8 ± 10.7 g	nd	2.8 ± 0.1 de	4.5 ± 0.1 bed	87.0 ± 3.9 de	379.0 ± 15.2 efg
	2009	1	6.0 ± 1.3 fghi	366.8 ± 10.6 c	nd	2.3 ± 0.6 efg	2.4 ± 0.6 fg	80.3 ± 12.9 ef	457.8 ± 16.7 c
		2	4.2 ± 0.3 hijk	242.9 ± 6.4 hi	nd	1.5 ± 0.4 hijkl	1.8 ± 0.1 ghi	70.1 ± 1.7 g	320.4 ± 7.7 jkl
cv. Korona									
N	2008	1	21.3 ± 0.6 c	275.1 ± 10.5 g	17.9 ± 2.5 b	1.7 ± 0.2 ghij	4.0 ± 0.6 cde	49.8 ± 1.3 jk	369.9 ± 9.8 gh
		2	15.9 ± 0.5 d	287.0 ± 2.1 fg	15.4 ± 1.7 cd	1.5 ± 0.8 hijkl	3.7 ± 0.3 de	51.3 ± 2.1 ijk	374.7 ± 5.8 fgh
	2009	1	23.1 ± 3.1 c	240.3 ± 14.0 hij	19.6 ± 1.2 b	1.1 ± 0.2 ijklmn	4.8 ± 1.6 bc	65.4 ± 5.2 gh	354.4 ± 25.7 ghij
		2	12.5 ± 3.7 de	221.0 ± 9.9 ijk	13.8 ± 2.5 cde	1.0 ± 0.1 jlmno	3.4 ± 0.5 ef	51.1 ± 10.1 ijk	302.8 ± 35.6 lm
Dk	2009	1	15.4 ± 0.2 d	319.9 ± 7.1 de	10.7 ± 0.5 fg	2.1 ± 0.2 fgh	nd	57.5 ± 1.2 hij	405.6 ± 7.2 ef
		2	21.0 ± 2.1 c	410.4 ± 19.8 b	12.1 ± 0.5 ef	3.8 ± 0.3 bc	nd	78.5 ± 4.8 f	525.8 ± 25.5 b
D	2008	1	40.9 ± 6.4 a	467.2 ± 8.4 a	21.8 ± 1.7 a	4.7 ± 1.1 a	8.2 ± 1.7 a	143.6 ± 1.9 a	686.4 ± 13.5 a
		2	36.0 ± 3.0 b	365.6 ± 6.9 c	13.6 ± 1.4 de	4.2 ± 0.1 ab	8.1 ± 0.5 a	109.8 ± 3.9 b	537.3 ± 3.5 b
	2009	1	22.6 ± 2.9 c	349.5 ± 25.8 c	15.8 ± 2.0 c	1.5 ± 0.3 hijkl	5.4 ± 1.5 b	113.7 ± 6.5 b	508.5 ± 35.7 b
		2	15.7 ± 0.8 d	307.7 ± 5.1 ef	12.6 ± 1.0 ef	1.3 ± 0.2 ijklm	4.5 ± 0.3 bcd	99.7 ± 4.5 c	441.4 ± 8.9 cd

Table 2
(Continued)

Origin	Year	Date	CYA 3-GLU ^b ($\mu\text{g g}^{-1}$)	PEL 3-GLU ^c ($\mu\text{g g}^{-1}$)	PEL 3-RUT ^c ($\mu\text{g g}^{-1}$)	PEL derivative ^c ($\mu\text{g g}^{-1}$)	CYA 3-GLU-MAL ^b ($\mu\text{g g}^{-1}$)	PEL 3-GLU-MAL ^c ($\mu\text{g g}^{-1}$)	SUM ANTHO CYANINS ($\mu\text{g g}^{-1}$)
cv. Clery									
D	2008	1	7.3 ± 0.5 fghi	208.1 ± 7.4 kl	8.4 ± 0.2 hi	1.8 ± 0.3 ghi	1.5 ± 0.2 hijk	56.9 ± 1.6 hij	284.0 ± 6.9 m
	2009	2	6.6 ± 0.9 fghi	339.7 ± 9.1 cd	8.9 ± 3.5 gh	3.5 ± 0.3 cd	2.5 ± 0.2 fgh	90.2 ± 1.5 d	451.4 ± 25.0 c
		1	2.3 ± 0.6 k	312.0 ± 14.7 ef	7.6 ± 1.6 hij	1.6 ± 0.2 ghijk	1.1 ± 0.2 jkl	88.3 ± 8.4 de	412.8 ± 32.6 de
		2	2.7 ± 0.1 jk	262.7 ± 11.5 gh	6.7 ± 0.6 ijk	1.5 ± 0.4 hijkl	0.8 ± 0.1 kl	84.8 ± 2.4 def	359.2 ± 14.3 ghi
CH	2008	1	6.1 ± 1.3 fghi	266.3 ± 9.5 gh	4.9 ± 1.4 kl	3.0 ± 0.8 de	1.3 ± 0.1 ijk	81.3 ± 6.9 def	363.9 ± 20.9 gh
		2	5.0 ± 1.2 ghij	285.0 ± 21.6 fg	5.3 ± 0.7 kl	3.4 ± 0.6 cd	1.0 ± 0.1 jkl	81.4 ± 6.0 def	382.4 ± 27.5 efg
	2009	1	3.5 ± 0.1 ijk	366.8 ± 10.6 c	6.2 ± 0.2 jkl	2.7 ± 0.2 ef	0.9 ± 0.3 jkl	87.4 ± 3.6 de	468.7 ± 14.7 c
		2	4.2 ± 0.3 hijk	242.9 ± 6.4 hi	4.2 ± 0.3 l	1.5 ± 0.4 hijkl	0.9 ± 0.1 jkl	70.1 ± 1.7 g	324.7 ± 8.0 ijkl
Significance									
		Cultivar	**	**	**	**	**	**	**
		Origin	**	**	**	**	**	**	**
		Year	**	**	*	**	**	ns	**
		Sampling	ns	ns	**	**	ns	**	**
		Cultivar x origin	**	**	**	**	**	**	**
		Cultivar x year	**	**	**	**	**	**	**

^aData are expressed as mean of each sampling date. Mean values ($n=3$) followed by a different lower-case letter in each column were significantly different at $P \leq 0.05$ (Tamhanes test).

Data are expressed as equivalents of ^bcyanidin 3-glucoside and ^cpelargonidin 3-glucoside. nd, not detected; CYA, cyanidin; GLU, glucoside; CYA, cyanidin; GLU-MAL, glucoside-malonate; D, Germany; CH, Switzerland; Dk, Denmark; N, Norway.

Table 3
Levels of phenolic compounds in three cultivars from three different locations^a

Origin	Year	Date	ET ^b ($\mu\text{g g}^{-1}$)	PAC ^c ($\mu\text{g g}^{-1}$)	<i>p</i> -COU GILU ^d ($\mu\text{g g}^{-1}$)	EA derivative ^b ($\mu\text{g g}^{-1}$)	QUER 3-GLC ^e ($\mu\text{g g}^{-1}$)	KAE 3-GLC+KAE 3-GLU ^f ($\mu\text{g g}^{-1}$)	KAE 3-GLC-MAL ^f ($\mu\text{g g}^{-1}$)
cv. Elsanta									
N	2008	1	455 ± 65 defgh	326 ± 13 c	17.8 ± 3.1 ij	7.2 ± 1.6 hijk	32.8 ± 3.8 abcd	3.8 ± 0.4 f	4.7 ± 0.6 d
		2	381 ± 27 ijk	249 ± 24 gh	18.9 ± 7.6 hi	6.5 ± 1.6 klmn	28.9 ± 5.8 bcde	6.4 ± 0.5 d	4.5 ± 0.3 d
Dk	2009	1	559 ± 31 bcd	401 ± 8 b	32.3 ± 3.5 ef	6.1 ± 0.5 lmno	28.9 ± 1.4 bcde	5.3 ± 0.3 e	4.2 ± 0.1 de
		2	497 ± 86 cdef	278 ± 28 efg	17.6 ± 3.7 ij	5.1 ± 1.6 nop	14.6 ± 2.6 lmno	4.7 ± 0.5 e	4.2 ± 0.5 de
D	2009	1	449 ± 25 defgh	446 ± 44 a	29.8 ± 0.7 fg	5.6 ± 0.5 mnop	35.9 ± 6 a	6.3 ± 0.8 d	3.2 ± 0.6 e fgh
		2	695 ± 47 ab	445 ± 50 a	35.7 ± 1.1 de	6.2 ± 0.8 lmno	35.2 ± 2.2 ab	7.2 ± 0.2 bc	4.2 ± 0.7 de
CH	2008	1	389 ± 17 ghijk	290 ± 7 def	14.2 ± 2.3 j	6.7 ± 0.5 jklm	24.8 ± 1.9 efg	6.2 ± 0.5 d	6.1 ± 1.1 c
		2	470 ± 12 cdefg	254 ± 27 fgh	16.5 ± 3.1 ij	5.5 ± 0.6 mnop	29.4 ± 1.5 bcde	8.7 ± 0.7 a	8.1 ± 1.8 a
CH	2009	1	351 ± 21 jk	274 ± 13 e fgh	23.2 ± 0.7 h	3.4 ± 0.2 p	20.1 ± 1.0 ghijkl	4.8 ± 0.2 e	5.8 ± 0.6 c
		2	502 ± 169 cdef	277 ± 6 e fgh	18.0 ± 1.8 hi	5.4 ± 0.5 mnop	20.3 ± 2.3 ghijkl	7.6 ± 0.6 b	6.1 ± 1.3 c
CH	2008	1	349 ± 59 jk	261 ± 22 e fgh	19.4 ± 2.0 hi	4.5 ± 1.3 op	23.5 ± 3.5 e fghi	5.4 ± 0.4 e	7.3 ± 0.8 ab
		2	348 ± 7 jk	241 ± 1 h	20.1 ± 0.9 hi	5.2 ± 0.1 nop	28.8 ± 1.2 bcde	6.6 ± 0.3 cd	6.8 ± 0.3 bc
CH	2009	1	398 ± 42 ghij	292 ± 8 de	32.0 ± 3.3 ef	8.0 ± 1.4 ghij	27.4 ± 2.3 cde	8.6 ± 0.2 a	4.5 ± 0.3 d
		2	398 ± 42 ghij	314 ± 21 cd	20.2 ± 2.1 hi	6.4 ± 0.4 klmn	29.0 ± 1.7 bcde	8.6 ± 0.8 a	3.1 ± 0.3 fgh
cv. Korona									
N	2008	1	415 ± 27 fghij	181 ± 36 ijk	45.5 ± 5.6 cd	8.5 ± 1.0 e fghi	15.3 ± 2.3 klmn	1.4 ± 0.2 g	1.6 ± 0.1 jk
		2	321 ± 53 k	151 ± 19 lm	41.2 ± 6.5 cd	8.8 ± 2.4 e fghi	6.8 ± 0.7 o	1.2 ± 0.1 gh	1.2 ± 0.2 k
Dk	2009	1	646 ± 104 ab	255 ± 6 e fgh	60.7 ± 2.2 b	11.1 ± 1.1 cdef	26.5 ± 2.2 cdef	1.0 ± 0.1 gh	1.6 ± 0.1 jk
		2	582 ± 49 bc	184 ± 12 ijk	44.7 ± 6.4 cd	10.5 ± 0.4 cdefg	10.7 ± 2.4 no	0.5 ± 0.1 h	1.2 ± 0.2 k
Dk	2009	1	453 ± 130 defgh	191 ± 8 ijk	74.3 ± 4.7 a	9.5 ± 1.5 defgh	16.6 ± 1.7 jklm	0.9 ± 0.1 gh	1.4 ± 0.1 jk
		2	562 ± 28 bcd	202 ± 21 ijk	70.6 ± 4.3 a	10.1 ± 5.9 cdefgh	12.3 ± 2.4 mn	0.7 ± 0.2 gh	1.6 ± 0.2 jk
D	2008	1	531 ± 50 cde	209 ± 2 i	33.5 ± 5.5 ef	12.0 ± 2.2 bc	21.2 ± 5.1 fghijk	1.3 ± 0.3 gh	2.6 ± 0.1 ghi
		2	424 ± 29 e fghi	150 ± 8 lm	41.7 ± 4.8 cd	11.1 ± 1.8 cdef	22.8 ± 2.4 e fghij	0.8 ± 0.1 gh	2.3 ± 0.2 hij
D	2009	1	392 ± 28 ghijk	165 ± 3 kl	43.3 ± 2.0 cd	7.0 ± 0.5 i jklm	18.0 ± 2.6 hijkl	0.9 ± 0.1 gh	2.2 ± 0.2 hijk
		2	509 ± 78 cdef	154 ± 2 lm	40.6 ± 4.3 cd	9.0 ± 1.2 defgh	17.0 ± 2.1 i jklm	0.5 ± 0.1 h	1.9 ± 0.1 ijk

Table 3
(Continued)

Origin	Year	Date	ET ^b ($\mu\text{g g}^{-1}$)	PAC ^c ($\mu\text{g g}^{-1}$)	p-COU ($\mu\text{g g}^{-1}$)	GLU ^d ($\mu\text{g g}^{-1}$)	EA derivative ^b ($\mu\text{g g}^{-1}$)	QUER 3-GLC ^e ($\mu\text{g g}^{-1}$)	KAE 3-GLC+KAE 3-GLU ^f ($\mu\text{g g}^{-1}$)	KAE 3-GLC-MAL ^f ($\mu\text{g g}^{-1}$)
cv. Clery										
D	2008	1	536 ± 37 bcde	172 ± 6 jkl	17.8 ± 1.4 ij	14.4 ± 1.0 ab	31.7 ± 1.9 abcd	7.4 ± 0.1 b	2.8 ± 0.2 fghi	
		2	485 ± 61 cdefg	159 ± 28 kl	20.9 ± 0.8 h	11.3 ± 0.4 cde	21.8 ± 2.6 fghij	8.5 ± 0.4 a	4.2 ± 0.2 de	
	2009	1	407 ± 66 ghij	179 ± 10 ijk	27.2 ± 1.8 g	9.1 ± 1.7 defgh	23.3 ± 1.7 efghij	8.0 ± 0.4 ab	4.3 ± 0.6 d	
		2	476 ± 58 cdefg	149 ± 9 lm	16.9 ± 1.2 ij	8.2 ± 1.3 fghij	24.3 ± 3.5 efgh	8.6 ± 0.4 a	3.1 ± 0.3 fgh	
CH	2008	1	387 ± 19 hijk	122 ± 14 m	15.7 ± 2.2 j	10.8 ± 1.4 cdefg	27.9 ± 1.7 cde	7.7 ± 0.2 b	3.6 ± 0.4 defg	
		2	426 ± 18 efghi	121 ± 4 m	23.1 ± 0.8 h	9.2 ± 1.1 defgh	26.0 ± 2.1 def	7.9 ± 0.8 ab	3.8 ± 0.4 def	
	2009	1	575 ± 51 bc	184 ± 11 ijk	32.0 ± 3.3 ef	16.4 ± 0.4 a	27.4 ± 3.3 cde	8.6 ± 0.2 a	4.5 ± 0.3 d	
		2	575 ± 51 bc	170 ± 16 jkl	18.2 ± 3.7 hi	11.8 ± 0.6 cd	33.0 ± 7.1 abc	8.6 ± 0.8 a	3.1 ± 0.3 fgh	
Significance										
			Cultivar	**	**	**	**	**	**	**
			Origin	**	**	**	ns	**	**	**
			Year	**	**	*	ns	**	**	**
			Sampling	ns	**	**	*	**	**	ns
			Cultivar x origin	**	**	**	ns	**	**	**
			Cultivar x year	**	**	**	**	**	**	**

^aData are expressed as mean of each sampling date. Mean values ($n=3$) followed by a different lower-case letter in each column were significantly different at $P \leq 0.05$ (Tamhanes test). Data are expressed as equivalents of ^bellagic acid, ^ccoumaric acid, ^dcatechin, ^equercetin 3-glucuronide, and ^fkaempferol 3-glucuronide in $\mu\text{g g}^{-1}$ of FW. EA, ellagic acid; PAC, proanthocyanidins. D, Germany; CH, Switzerland; Dk, Denmark; N, Norway. All other abbreviations see legend Fig. 1.

Table 4
Levels of DM, SSC, TA, AA, TMA, TP, ORAC and TEAC in three cultivars from three different locations^a

Origin	Year	Date	DM (%)	SSC (%)	TA (%)	AA ($\mu\text{g g}^{-1}$)	TMA ($\mu\text{g g}^{-1}$)	TP ($\mu\text{g g}^{-1}$)	ORAC ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	TEAC ($\mu\text{mol g}^{-1}$)
cv. Elsanta										
N	2008	1	13.0 ± 0.8 a	10.4 ± 2.3 a	0.91 ± 0.04 bcde	679 ± 111 hijk	272 ± 51 q	2492 ± 274 bc	34.3 ± 2.4 fghij	31.6 ± 2.1 de
		2	11.8 ± 0.6 b	10.2 ± 1.1 a	0.91 ± 0.04 bcde	689 ± 13 fghij	278 ± 22 pq	2163 ± 181 defg	32.2 ± 1.8 ghijk	27.8 ± 1.9 fghij
2009	1	1	11.4 ± 0.4 bc	10.2 ± 0.1 a	0.95 ± 0.06 abcd	803 ± 48 bcde	240 ± 9 q	2633 ± 6 b	51.9 ± 1.5 a	36.1 ± 1.4 bc
		2	10.7 ± 0.3 cd	8.8 ± 0.1 bcd	1.05 ± 0.19 a	798 ± 20 bcde	280 ± 26 pq	2037 ± 123 efgh	41.5 ± 5.1 bcd	28.0 ± 1.7 fghij
Dk	2009	1	10.7 ± 0.7 cd	9.5 ± 0.1 ab	0.84 ± 0.02 efghi	853 ± 35 bc	266 ± 30 q	3090 ± 258 a	55.2 ± 1.8 a	37.7 ± 2.1 ab
		2	9.4 ± 1.3 fghi	8.2 ± 0.8 cdef	0.83 ± 0.01 efghi	978 ± 63 a	332 ± 2 op	3209 ± 234 a	56.9 ± 3.0 a	40.1 ± 3.0 a
D	2008	1	7.1 ± 0.1 i	6.0 ± 0.3 kl	0.79 ± 0.02 fghij	775 ± 25 cdefg	358 ± 9 mno	2294 ± 193 cde	28.0 ± 3.2 kl	26.8 ± 1.8 hijkl
		2	9.8 ± 0.5 efgh	8.2 ± 0.3 cdef	0.65 ± 0.2 lm	608 ± 42 klm	539 ± 24 hij	2085 ± 118 defgh	26.9 ± 3.4 kl	23.2 ± 2.6 nopq
2009	1	1	8.4 ± 0.4 jk	6.2 ± 0.1 jkl	0.74 ± 0.03 ijklm	980 ± 24 a	345 ± 20 no	1891 ± 41 hijk	31.8 ± 2.1 ghijk	24.0 ± 0.4 lmno
		2	9.4 ± 0.3 fghi	7.0 ± 0.2 ghij	0.71 ± 0.03 jklm	849 ± 40 bc	389 ± 54 mno	1886 ± 45 hijk	30.4 ± 0.3 hijk	23.6 ± 1.2 mnop
CH	2008	1	9.0 ± 0.4 ijk	7.2 ± 0.7 ghij	0.72 ± 0.02 ijklm	815 ± 107 bcd	460 ± 28 kl	2224 ± 124 cde	38.2 ± 2.6 cdef	29.0 ± 2.2 efghi
		2	9.8 ± 0.2 efgh	8.5 ± 0.2 bcde	0.71 ± 0.02 jklm	818 ± 40 bcd	512 ± 6 hijk	2195 ± 28 cdef	38.8 ± 0.5 bcde	28.6 ± 0.5 efghi
2009	1	1	8.3 ± 0.1 k	5.8 ± 0.6 l	0.76 ± 0.04 ghijk	777 ± 25 cdefg	389 ± 8 mno	2313 ± 90 cde	38.1 ± 1.0 cdef	30.4 ± 1.9 defg
		2	11.6 ± 0.5 bc	8.5 ± 0.1 bcde	0.80 ± 0.06 efghi	792 ± 6 bcdef	381 ± 9 mno	2393 ± 63 bcd	37.1 ± 1.2 cdef	30.4 ± 1.7 defg
cv. Korona										
N	2008	1	12.0 ± 0.1 b	10.4 ± 1.1 a	0.85 ± 0.06 defg	632 ± 105 ijkl	404 ± 92 mn	2178 ± 575 defg	32.4 ± 4.6 fghij	28.2 ± 5.3 fghij
		2	10.3 ± 0.7 def	9.3 ± 0.4 abc	0.80 ± 0.06 efghi	418 ± 27 op	527 ± 57 hij	1641 ± 153 klm	25.2 ± 2.1	22.0 ± 1.6 opq
2009	1	1	11.3 ± 1.1 bc	10.1 ± 0.3 a	0.98 ± 0.01 abc	635 ± 30 ijkl	486 ± 42 jk	2242 ± 85 cde	44.3 ± 2.2 b	33.2 ± 0.5 cd
		2	11.9 ± 1.1 b	10.3 ± 0.9 a	0.99 ± 0.21 ab	629 ± 55 jklm	412 ± 50 lm	1824 ± 53 ijkl	39.3 ± 2.5 bcde	26.7 ± 1.0 hijkl
Dk	2009	1	9.7 ± 0.2 efgh	9.0 ± 0.4 bcd	0.95 ± 0.05 abcd	586 ± 41 lm	566 ± 16 fgh	1987 ± 152 fghij	38.7 ± 1.7 bcde	28.2 ± 1.4 fghij
		2	9.9 ± 0.2 defg	8.0 ± 0.2 defg	0.87 ± 0.02 cdef	468 ± 25 no	730 ± 15 b	2150 ± 44 defg	42.4 ± 2.4 bc	30.6 ± 1.7 def
D	2008	1	7.3 ± 0.1 i	6.6 ± 0.4 ijkl	0.84 ± 0.02 efgh	491 ± 14 mno	881 ± 7 a	2011 ± 113 efghi	32.4 ± 2.4 ghijk	25.1 ± 1.1 jklm
		2	9.5 ± 0.3 efgh	8.2 ± 0.3 cdef	0.74 ± 0.02 ijklm	365 ± 17 p	692 ± 6 bc	1560 ± 140 lm	35.5 ± 1.1 efgh	21.4 ± 1.3 pq
2009	1	1	9.0 ± 0.4 ijk	6.8 ± 0.1 ijkl	0.77 ± 0.02 ghijk	592 ± 63 klmn	726 ± 21 b	1574 ± 36 lm	35.7 ± 2.2 defg	22.9 ± 0.9 nopq
		2	9.6 ± 0.5 efgh	7.3 ± 0.1 fghij	0.75 ± 0.03 hijkl	585 ± 35 lm	612 ± 18 def	1526 ± 129 m	35.8 ± 2.5 defg	22.2 ± 1.1 opq

Table 4
(Continued)

Origin	Year	Date	DM (%)	SSC (%)	TA (%)	AA ($\mu\text{g g}^{-1}$)	TMA ($\mu\text{g g}^{-1}$)	TP ($\mu\text{g g}^{-1}$)	ORAC ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	TEAC ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	
cv. Clery											
D	2008	1	9.8 ± 0.2 efgh	7.5 ± 0.4 efgh	0.78 ± 0.06 ghijk	546 ± 35 mn	388 ± 13 mno	1996 ± 164 efghi	28.7 ± 1.7 jkl	23.3 ± 1.8 nopq	
		2	9.3 ± 0.3 ghij	8.4 ± 0.3 bcde	0.68 ± 0.03 klm	614 ± 35 klm	646 ± 25 cde	1817 ± 182 ijkl	26.5 ± 5.4 kl	20.8 ± 2.0 q	
2009	2009	1	8.9 ± 0.2 ijk	7.4 ± 0.3 fghi	0.68 ± 0.02 klm	752 ± 11 cdefg	597 ± 57 efg	1844 ± 35 ijkl	35.7 ± 2.6 defg	25.6 ± 0.6 jklmn	
		2	10.4 ± 0.2 de	8.6 ± 0.1 bcde	0.75 ± 0.03 hijkl	697 ± 22 efghi	505 ± 16 ijk	1771 ± 79 jklm	35.9 ± 3.1 defg	24.6 ± 1.3 lmno	
CH	2008	1	9.3 ± 0.4 ghij	7.3 ± 0.7 fghij	0.64 ± 0.01 m	730 ± 38 defgh	515 ± 25 hijk	1711 ± 76 jklm	29.4 ± 1.2 ijkl	25.1 ± 0.9 jklmn	
		2	9.9 ± 0.5 defg	8.1 ± 0.4 defg	0.71 ± 0.02 jklm	887 ± 17 ab	551 ± 21 ghi	1787 ± 46 jklm	30.1 ± 0.9 hijk	23.2 ± 0.5 nopq	
2009	2009	1	9.1 ± 0.1 hijk	7.2 ± 0.5 ghij	0.64 ± 0.06 m	845 ± 47 bc	659 ± 18 cd	2211 ± 82 cde	35.3 ± 1.2 efgh	29.9 ± 0.7 efgh	
		2	10.4 ± 0.3 de	8.2 ± 0.1 cdef	0.71 ± 0.04 jklm	736 ± 26 defg	465 ± 6 kl	1984 ± 69 fghij	28.4 ± 1.2 jkl	27.0 ± 0.5 ghijk	
Significance											
	Cultivar	**	**	*	**	**	**	**	**	**	
	Origin	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
	Year	ns	ns	**	**	**	**	ns	**	**	
	Sampling	**	*	ns	**	**	**	**	*	**	
	Cultivar × origin	**	*	**	**	**	**	**	**	**	
	Cultivar × year	**	*	ns	ns	ns	**	ns	*	**	

^aData are expressed as mean of each sampling date. Mean values ($n=3$) followed by a different lower-case letter in each column were significantly different at $P \leq 0.05$ (Tamhanes test). DM, Dry matter; SSC, soluble solids content; TA, total acidity; AA, ascorbic acid; TMA, total monomeric anthocyanins as equivalents of pelargonidin 3-glucoside; TP, total phenolics, as gallic acid equivalents; TEAC, trolox equivalent antioxidant capacity as trolox equivalents; ORAC, oxygen radical absorbance capacity as trolox equivalents. D, Germany; CH, Switzerland; Dk, Denmark; N, Norway.

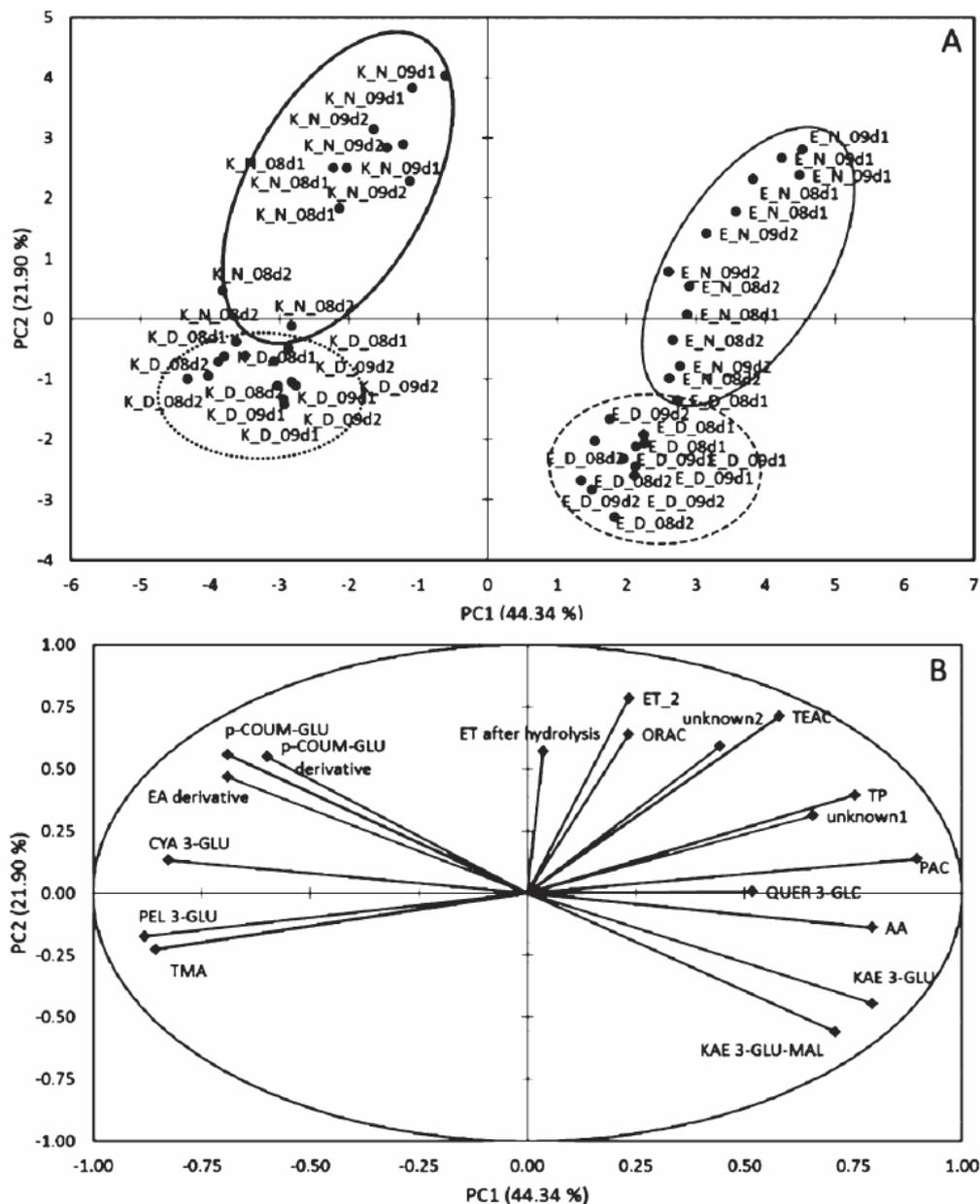


Fig. 6. Principal component analysis (PC1 and PC2) of two cultivars (K = Korona. E = Elsanta) grown at two locations (D, Germany; N, Norway) displayed in the score plot (A) characterized by bioactive components shown in the loading plot (B). Kaempferol 3-glucoside includes kaempferol 3-glucuronide. The number indicates the experimental year 08 for 2008 and 09 for 2009. The ending *_d1* indicates the sampling during the harvest period in week 1 and *_d2* the sampling in week 2 of the harvest period.

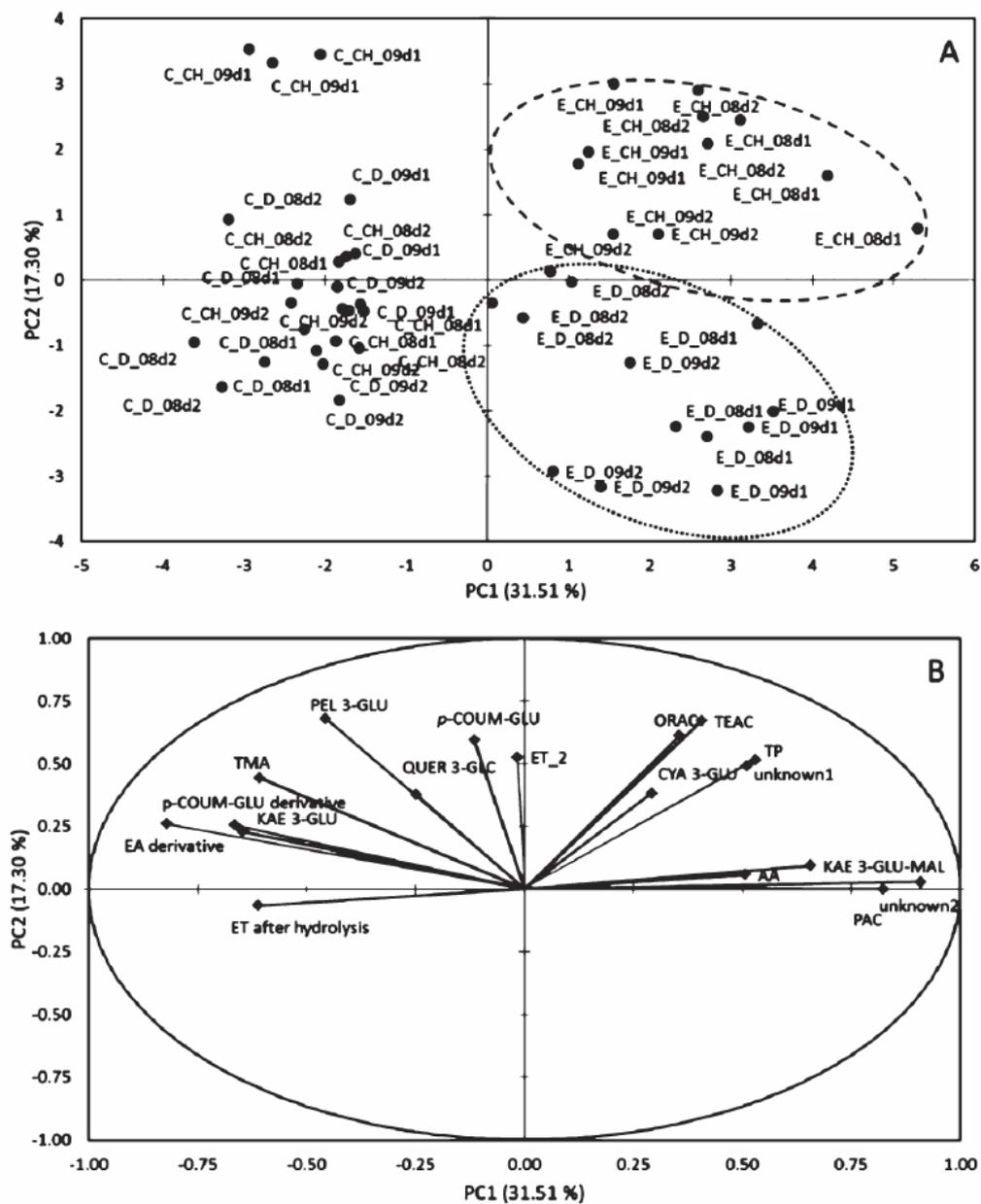


Fig. 7. Principal component analysis (PC1 and PC2) of two cultivars (C=Clery, E=Elsanta) grown at two locations (D, Germany; CH, Switzerland) displayed in the score plot (A) characterized by bioactive components shown in the loading plot (B). Kaempferol 3-glucoside includes kaempferol 3-glucuronide. The number indicates the experimental year 08 for 2008 and 09 for 2009. The ending *_d1* indicates the sampling during the harvest period in week 1 and *_d2* the sampling in week 2 of the harvest period.

In general, cultivars responded similarly, but displayed different sensitivity to environmental parameters as shown for cv. Clery. A lower content of total anthocyanin in the northern fruit samples was observed as an overall cultivar effect (Table 2). This result could be due to lower mean temperatures in the northern regions (Fig. 3, Table 1). In contrast to other crops [43], strawberry anthocyanins increase with higher temperature [21, 49]. Additionally, the extended day length in the northern regions played a minor role in the biosynthesis of anthocyanins in strawberries. This fact is in agreement with similar studies in respect to protected cultivation and UV-B radiation [22, 32]. Nevertheless, information about effects of photoperiod on anthocyanin biosynthesis in strawberry is still scarce. The biosynthesis of kaempferols is induced by higher temperatures during ripening as well [21, 49], in general, this flavonol was accumulated in fruit from southern regions (Figs. 4, 5, Table 3). Furthermore, Wang et al. [49] found also a high relationship between temperature and the quercetin 3-glucuronide content. This observation could not be confirmed by the present study because in most cases the level in the fruit was not dependent by the origin (Figs. 4, 5, Table 3). However, the content of this flavonol is also highly dependent on UV-B radiation [22], which could be a possible explanation of the results. A measurement of the UV-B radiation during such a trial would be helpful to elucidate this possibility.

Additionally, northern samples tended to an increased antioxidant capacity despite of low anthocyanin contents. Generally, the tannin-related components like PACs and ellagitannins were increased in the northern fruit samples. This result is conflicting with studies of temperature effects conducted recently [21]: strawberries produced in a cooler environment contained lower contents of PAC and ellagic acid after hydrolysis. During this study, the different temperature treatments were applied with the beginning of flowering. In the present study the higher contents of PAC and ellagitannins in fruit from the northern samples compared to the southern ones can be explained with the extended day length and different temperature profiles during the day. In consideration of the above mentioned greenhouse experiments, the daily temperature profiles of these experiments (day/night: 16°C/10°C and 22°C/16°C) were not comparable with those of the natural climates of the different locations in the present study (Table 1). A second assumption can be argued by temperature effects during flower emergence. This is supported by a recent developmental and environmental study of strawberry flavonoids [9] where tannin-related bioactives occur in the fruit very early in high contents. A significant effect of the two sites within Italy was observed in the proanthocyanidin composition. More precisely, the epicatechin/catechin ratio was affected by the growing location during the whole ripening process; starting from small green to full ripe fruit. In contrast, no clear effects were observed in ellagic acid related components. A possible explanation could be the distance of the two locations, which was only approximately 4° of latitude. Within the presented study, the investigations were focused on a comparison of sum parameters of ellagitannins and PAC content. Anyway, a detailed characterization of these compounds would be remarkable. Tannin-related components are often a disregarded class of polyphenols in strawberry studies [4, 49], likely, because of missing analytical methods, although they strongly contribute to the antioxidant capacity [7] and have putative health effects [29, 39]. Within our study PAC showed the highest correlation coefficient of 0.817 with TP which was the highest of all determined parameters.

Significant temperature effects on the content of ascorbic acid in crops were detected in earlier studies with a positive influence of low temperature [21, 27, 37, 47]. In addition, shading affected negatively the ascorbic acid content in strawberries [17]. The results in the present study have shown that the ascorbic acid content in strawberries was increased depending on cooler regions with extended day length (Figs. 4, 5), however with only marginal effects (Table 4).

Besides bioactives, the quality attributes dry matter, soluble solids content, and titratable acidity varied between the origins (Table 4). The presented results were discussed on a fresh weight basis; however, a calculation based on the dry matter content as reference parameter is possible, too and would decrease the contents in the fruit of the northern regions due to lower water contents (Table 4). In addition, not only dry matter should be considered, also the fruit size should be attended. The major content of phenols is located in the peel of the fruit [22]. Hence, the larger the fruit the lower is the surface to flesh ratio. Consequently, the total phenol content is higher in smaller strawberries agreeing to other publications [4, 31]. Investigations of temperature showed an increase of fruit size with cooler temperatures, which is possibly depending on the cultivar [21, 26, 47], but not directly linked to the growing location [24].

3.2.3. Effects of latitude on the anthocyanin distribution

As described above, total anthocyanin content was strongly affected by the growing location, but also the relative distribution of individual anthocyanins was influenced. Generally, cv. Elsanta fruit from the northern locations

had with about 82% a higher fraction of pelargonidin 3-glucoside and with 14% a lower percentage of pelargonidin 3-malonylglucoside than the southern ones (pelargonidin 3-glucoside: 75%, pelargonidin 3-malonylglucoside: 21%). This observation is as well valid for cv. Korona with similar values. The strong influence on pelargonidin 3-malonylglucoside by latitude may be explained by temperature effects; other studies showed that the formation of this pelargonidin derivative is the most temperature inducible anthocyanin in strawberry [21, 22, 49]. Additionally, for cv. Elsanta the percentage of cyanidin 3-glucoside was significantly enhanced for the northern samples compared to the southern ones, although this anthocyanin can be influenced by temperature positively [49]. The absolute amount of cyanidin 3-glucoside was significantly enhanced only in 2008 for cv. Korona in Germany. Similar contents depending on different latitudes may be explained by similar UV-B response as describes above for the content of the flavonol quercetin [22] e.g. the extended day length. The anthocyanin composition of cvs Elsanta and Clery samples from Germany and Switzerland was very similarly, however, the pelargonidin 3-rutinoside fraction in cv. Clery was higher in the German samples (Table 2). Both locations showed low differences in temperature during ripening, whereas PAR was different (Table 1). This result indicated that PAR contributed less to the anthocyanin composition compared to temperature.

4. Conclusion

This evaluation showed that genotype was the major contributor to composition of bioactive components in strawberries. However, the growing location affected the content of phenolic components and ascorbic acid as well. In general, the effect of north-south locations (17 degree of latitude) was stronger than year-to-year differences or the effect of harvest period. Other factors, e.g. soil type, precipitation or irrigation seemed to play a less important role than temperature or day length. Furthermore, the effect of temperature is presumably stronger than the impact of light. This assumption is consistent regarding the content of anthocyanins, studied earlier. The hypothesis that northern latitudes might tend to lower content of bioactive compounds was rejected. A strong effect was observed on increased tannin-related components resulting in higher antioxidant capacity in samples from the north but the putative impact factors were difficult to evaluate. In this context further research is necessary with standardised experimental design including samples during the maturation with respect to yield, fruit size and leaf to fruit ratio. This study showed that short-term weather changes can have a high impact on the biosynthesis of bioactives and it is essential to clarify the most susceptible developmental state of the fruit for each class of flavonoids or even flowers where secondary metabolites already occur [15].

Acknowledgments

The authors acknowledge the European Science Foundation (EU-COST project 863 Euroberry) for supporting the cooperation network of the authors. We like to thank the involved persons from all sites for field and analytical assistance.

References

- [1] K. Aaby, D. Ekeberg and G. Skrede, Characterization of phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa*) fruits by different HPLC detectors and contribution of individual compounds to total antioxidant capacity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55** (2007), 4395–4406.
- [2] A. Åkerström, L. Jaakola, U. Bång and A. Jäderund, Effects of latitude-related factors and geographical origin on anthocyanidin concentrations in fruits of *Vaccinium myrtillus* L. (bilberries), *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (2010), 11939–11945.
- [3] AMI, Marktbilanz Obst: Daten, Fakten, Entwicklung: Deutschland, EU, Welt, *Agrarmarkt Informations-Gesellschaft mbH*, 2010.
- [4] M.J. Anttonen, K.I. Hoppula, R. Nestby, M.J. Verheul and R.O. Karjalainen, Influence of fertilization, mulch color, early forcing, fruit order, planting date, shading, growing environment, and genotype on the contents of selected phenolics in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54** (2006), 2614–2620.

- [5] C.J. Atkinson, P.A.A. Dodds, Y.Y. Ford, J. Le Miere, J.M. Taylor, P.S. Blake and N. Paul, Effects of cultivar, fruit number and reflected photosynthetically active radiation on *Fragaria x ananassa* productivity and fruit ellagic acid and ascorbic acid concentrations, *Annals of Botany* **97** (2006), 429–441.
- [6] R. Ballentine, Determination of ascorbic acid in citrus fruit juices, *Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition* **13** (1941), 89.
- [7] G. Borges, A. Degeneve, W. Mullen and A. Crozier, Identification of flavonoid and phenolic antioxidants in black currants, blueberries, raspberries, red currants, and cranberries, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58** (2009), 3901–3909.
- [8] B. Buendía, M.I. Gil, J.A. Tudela, A.L. Gady, J.J. Medina, C. Soria, J.M. López and F.A. Tomás-Barberán, HPLC-MS analysis of proanthocyanidin oligomers and other phenolics in 15 strawberry cultivars, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58** (2010), 3916–3926.
- [9] C. Carbone, A. Preuss, R.C.H. De Vos, E. D'Amico, G. Perrotta, A.G. Bovy, S. Martens and C. Rosati, Developmental, genetic and environmental factors affect the expression of flavonoid genes, enzymes and metabolites in strawberry fruits, *Plant, Cell & Biology* **32** (2009), 1117–1131.
- [10] P. Crespo, Variability of health and taste promoting compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits, Dissertation, ETH No.19164, 2010.
- [11] P. Crespo, J.G. Bordonaba, L.A. Terry and C. Carlen, Characterisation of major taste and health-related compounds of four strawberry genotypes grown at different Swiss production sites, *Food Chemistry* **122** (2010), 16–24.
- [12] M.M. Giusti, L.E. Rodriguez-Saona and R.E. Wrolstad, Molar absorptivity and color characteristics of acylated and non-acylated pelargonidin-based anthocyanins, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **47** (1999), 4631–4637.
- [13] S.H. Häkkinen, H.M. Mykkanen, I.M. Heinonen and A.R. Törrönen, Ellagic acid content in berries: Influence of domestic processing and storage, *European Food Research and Technology* **212** (2000), 75–80.
- [14] J.F. Hancock, Strawberries - Crop Production Science in Horticulture CABI Publishing, 1999.
- [15] K. Hanhineva, I. Rogachev, H.I. Kokko, S. Mintz-Oron, I. Venger, S. Kärenlampi and A. Aharoni, Non-targeted analysis of spatial metabolite composition in strawberry (*Fragaria x ananassa*) flowers, *Phytochemistry* **69** (2008), 2463–2481.
- [16] S.M. Hannum, Potential impact of strawberries on human health: A review of the science, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **44** (2004), 1–17.
- [17] E. Hansen and G.F. Waldo, Ascorbic acid content of small fruits in relation to genetic and environmental factors, *Food Research* **9** (1944), 453–461.
- [18] D. Hernanz, A.F. Recamales, A.J. Meléndez-Martínez, M.L. Gonzalez-Miret and F.J. Heredia, Assessment of the differences in the phenolic composition of five strawberry cultivars (*Fragaria x ananassa* Duch.) grown in two different soilless systems, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55** (2007), 1846–1852.
- [19] D. Huang, B. Ou, M. Hampsch-Woodill, J.A. Flanagan and R.L.R. Prior, High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50** (2002), 4437–4444.
- [20] L. Jaakola and A. Hohtola, Effect of latitude on flavonoid biosynthesis in plants, *Plant, Cell & Environment* **33** (2010), 1239–1247.
- [21] M. Josuttis, H. Dietrich, C.D. Patz and E. Krüger, Effects of air and soil temperatures on the chemical composition of fruit and agronomic performance in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.), *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* **86** (2011), 415–421.
- [22] M. Josuttis, H. Dietrich, D. Treutter, F. Will, L. Linnemannstöns and E. Krüger, Solar UVB response of bioactives in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch. L.): A comparison of protected and open-field cultivation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58** (2010), 12692–12702.
- [23] M. Josuttis, E. Krüger and H. Dietrich, Influence of cultivation techniques on health beneficial components in strawberry, *Acta Hort (ISHS)* **838** (2009), 205–206.
- [24] E. Krüger, R. Nestby, T.B. Toldam-Andersen, C. Carlen and B. Mezzetti, A comparison of growing condition, strawberry growth and yield performance affected by different latitude of Europe, *Journal of Berry Research* **2** (2012), (in press).
- [25] A.K. Lätti, L. Jaakola, K.R. Riihinen and P.S. Kainulainen, Anthocyanin and flavonol variation in bog bilberries (*Vaccinium uliginosum* L.) in Finland, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58** (2010), 427–433.
- [26] J. Le Mière, P. Hadley, J. Darby and N.H. Battey, The effect of thermal environment planting date and crown size on growth development yield of *Fragaria x ananassa* Duch. cv. Elsanta, *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* **73** (1998), 786–795.
- [27] S.K. Lee and A.A. Kader, Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops, *Postharvest Biology and Technology* **20** (2000), 207–220.
- [28] R. Matissek and G. Steiner, *Lebensmittelanalytik - Grundzüge, Methoden, Anwendungen* Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, New York, 2006.
- [29] G.J. McDougall, F. Shpiro, P. Dobson, P. Smith, A. Blake and D. Stewart, Different polyphenolic components of soft fruits inhibit α -amylase and α -glucosidase, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53** (2005), 2760–2766.
- [30] U. Moor, K. Karp, P. Poldma and A. Pae, Cultural systems affect content of anthocyanins and vitamin C in strawberry fruits, *European Journal of Horticultural Science* **70** (2005), 195–201.
- [31] R. Nestby, M.J. Anttonen, M.J. Verheul and R.O. Karjalainen, Effect of fruit order, polyethylene mulch colour and early forcing on the fruit quality of tunnel-grown strawberry cv. 'Korona', *European Journal of Horticultural Science* **72** (2011), 164–170.

- [32] M. Ordidge, P. García-Marcías, N.H. Battey, M.H. Gordon, P. Hadley, P. John, J.A. Lovegove, E. Vysini and A. Wagstaffe, Phenolic contents of lettuce, strawberry, raspberry, and blueberry crops cultivated under plastic films varying in ultraviolet transparency, *Food Chemistry* **119** (2010), 1224–1227.
- [33] B. Ou, M. Hampsch-Woodill and R.L.R. Prior, Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49** (2001), 4619–4626.
- [34] F. Poiroux-Gonord, L.P.R. Bidel, A.L. Fanciullino, H. Gautier, F. Lauri-Lopez and L. Urban, Health benefits of vitamins and secondary metabolites of fruits and vegetables and prospects to increase their concentrations by agronomic approaches, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58** (2010), 12065–12082.
- [35] R.L. Prior, E. Fan, H. Ji, A. Howell, C. Nio, M.J. Payne and J. Reed, Multi-laboratory validation of a standard method for quantifying proanthocyanidins in cranberry powders, *Journal of the Science of Food and Agriculture* **90** (2010), 1473–1478.
- [36] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang and C. Rice-Evans, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical Biology and Medicine* **26** (1999), 1231–1237.
- [37] S.F. Remberg, A. Sønsteby, K. Aaby and O.M. Heide, Influence of postflowering temperature on fruit size and chemical composition of glen ample raspberry (*Rubus idaeus* L.), *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58** (2010), 9120–9128.
- [38] J. Reyes-Carmona, G.G. Yousef, R.A. Martínez-Peniche and M.A. Lila, Antioxidant capacity of fruit extracts of blackberry (*Rubus* sp.) produced in different climatic regions, *Journal of Food Science* **70** (2005), 497–503.
- [39] H.A. Ross, G.J. McDougall and D. Stewart, Antiproliferative activity is predominantly associated with ellagitannins in raspberry extracts, *Phytochemistry* **68** (2007), 218–228.
- [40] J. Scalzo, A. Politi, N. Pellegrini, B. Mezzetti and M. Battino, Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit, *Nutrition* **21** (2005), 207–213.
- [41] N.P. Seeram, Berry fruits for cancer prevention: Current status and future prospects, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56** (2008), 630–635.
- [42] V.L. Singleton, R. Orthofer and R.M. Lamuela-Raventós, In: Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent, ed. P. Lester, *Methods in Enzymology Oxidants and Antioxidants Part A* (Academic Press), 1999, pp. 152–178.
- [43] D. Treutter, Managing phenol contents in crop plants by phytochemical farming breeding – visions constraints, *International Journal of Molecular Sciences* **11** (2010), 807–857.
- [44] S. Tulipani, B. Mezzetti, F. Capocasa, S. Bompadre, J. Beekwilder, C.H.R. de Vos, E. Capanoglu, A.G. Bovy and M. Battino, Antioxidants, phenolic compounds, and nutritional quality of different strawberry genotypes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56** (2008), 696–704.
- [45] S. Tulipani, G. Marzban, A. Herndl, M. Laimer, B. Mezzetti and M. Battino, Influence of environmental and genetic factors on health-related compounds in strawberry, *Food Chemistry* **124** (2011), 906–913.
- [46] S. Tulipani, B. Mezzetti and M. Battino, Impact of strawberries on human health: Insight into marginally discussed bioactive compounds for the Mediterranean diet, *Public Health Nutrition* **12** (2009), 1656–1662.
- [47] S.Y. Wang and M.J. Camp, Temperatures after bloom affect plant growth and fruit quality of strawberry, *Scientia Horticulturae* **85** (2000), 183–199.
- [48] S.Y. Wang and P. Millner, Effect of different cultural systems on antioxidant capacity, phenolic content, and fruit quality of strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.), *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57** (2009), 9651–9657.
- [49] S.Y. Wang and W. Zheng, Effect of plant growth temperature on antioxidant capacity in strawberry, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49** (2001), 4977–4982.
- [50] S.Y. Wang, W. Zheng and G.J. Galletta, Cultural system affects fruit quality and antioxidant capacity in strawberries, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50** (2002), 6534–6542.

7

Genetic and environmental effects on tannin composition in strawberry (*Fragaria x ananassa*) varieties grown in different European locations

Original-Publikation:

Dieses Kapitel erschien im
Journal of Agricultural and Food Chemistry (2013), 61,
S. 790-800
von Melanie Josuttis, Susan Verrall, Erika Krüger,
Derek Stewart und Gordon J. McDougall

Reprinted with permission, Copyright 2013, American Chemical Society

Eigene Leistung:

Hauptverantwortlichkeit der Versuchsbetreuung, chemische Analyse und Hauptverantwortlichkeit der Datenauswertung,
schriftliche Abfassung der Publikation mit den Co-Autoren

Genetic and Environmental Effects on Tannin Composition in Strawberry (*Fragaria × ananassa*) Cultivars Grown in Different European Locations

Melanie Josuttis,^{§,#} Susan Verrall,[‡] Derek Stewart,[‡] Erika Krüger,[§] and Gordon J. McDougall^{*‡}

[§]Department of Pomology, Geisenheim Research Center, Von-Lade-Strasse 1, 65366 Geisenheim, Germany

[‡]Environmental and Biochemical Sciences Group, Enhancing Crop Productivity and Utilisation Theme, The James Hutton Institute, Invergowrie, Dundee DD2 5DA, United Kingdom

Supporting Information

ABSTRACT: Strawberry cultivars grown at different locations in Europe showed genotype- and environment-dependent variation in total phenol and anthocyanin contents. This study focused on the compositional diversity of tannins from these cultivars using a high-throughput liquid chromatography–mass spectrometric (LC-MS) technique. Cultivars grown in Germany showed differences in the relative amounts of proanthocyanidins (PACs) and ellagitannins (ETs). Cultivars grown at three different European locations showed differences in their PAC/ET balance. ‘Elsanta’ grown in Switzerland had higher levels of ET-derived than PAC-derived signals compared to ‘Elsanta’ grown in Germany and Denmark. The trend to increased ET-derived signals was also noted for ‘Clery’ grown in Switzerland over Germany and was apparent for ‘Korona’ grown in Denmark over Germany. The altered ET/PAC balance was confirmed by conventional LC-MS analysis, which highlighted specific changes in composition rather than a general increase in ET components. These findings are discussed with respect to the environmental conditions at the different European locations.

KEYWORDS: strawberries, ellagitannins, proanthocyanidins, latitude, origin, cultivars, polyphenols

INTRODUCTION

Although the sensorial and organoleptic properties of strawberries remain key to consumer acceptability, the selection of strawberry cultivars has been increasingly influenced by their content of health beneficial components, which may play a role in the prevention of chronic diseases.¹ Strawberries are commonly ingested in significant amounts and, as such, are an important source of vitamin C and other bioactive compounds, such as polyphenols, that are reported to exhibit beneficial physiological effects.² Polyphenols influence strawberry quality, contributing to both sensorial and organoleptic attributes, such as color, flavor, and astringency. The main phenolic classes in strawberries are anthocyanins (responsible for their red color), flavonols, flavanols, hydroxycinnamic derivatives, proanthocyanidins, ellagitannins, and ellagic acid derivatives.^{4–6}

Strawberries are the leading soft fruit, with production in the European Union (EU) and global production increasing over the period 1990–2010 by 17 and 77%, to 1.433 and 4.3667 M tonnes, respectively (FAOSTAT, 2010; <http://faostat.fao.org/>). As a consequence of their wide availability and popularity, strawberries are a major dietary source of ellagic acid-containing components, ellagitannins, and proanthocyanidins.⁷ Over the past few years, interest has been refocused on the tannin components of berries, such as the proanthocyanidins and ellagitannins, due to their high antioxidant potential^{5,8} and potential bioactivities relevant to cancer progression,^{9,10} vasorelaxation,¹¹ and enzyme inhibition relevant to glycemic control¹² or obesity.¹³ Strawberries are unique among berries in that they contain substantial amounts of both proanthocyanidins and ellagitannins.^{14,15} The polyphenol profiles of

strawberries from diverse genetic backgrounds have been studied and reveal substantial cultivar-to-cultivar differences^{16–20} including within the tannin components.⁵

This study assesses the variation in polyphenol composition in strawberry cultivars grown in different locations across Europe under comparable agronomic conditions. A previous study confirmed that genotype was the major influence on phenolic composition of strawberry cultivars grown at different latitudes.²¹ However, comparison of the same cultivars grown at more northern latitudes revealed lower relative anthocyanin contents than those grown in the south, which suggested that the higher relative total phenol contents were possibly due to increased levels of tannin (proanthocyanidin and ellagitannin) components. This study employs a high-throughput LC-MS technique²² and focuses on differences in tannin composition between cultivars grown at different locations.

MATERIALS AND METHODS

Plant Material. In 2009, strawberries (*Fragaria × ananassa* Duch.) of four different cultivars (‘Elsanta’, ‘Korona’, ‘Clery’, and ‘Everest’) were grown at an experimental open field in three replications with 40 plants per plot in a randomized order at the Geisenheim Research Center, Germany (D) (49 °N). Fruit of cv. ‘Elsanta’, produced under comparable growing conditions, that is, open field, plant number, plant density, randomization, etc.), were obtained from two other locations in Europe: University of Copenhagen, Denmark (DK) (55

Received: September 1, 2012

Revised: January 9, 2013

Accepted: January 10, 2013

Published: January 10, 2013

Table 1. Total Anthocyanins, Total Phenols, Antioxidant Capacity, and Ascorbic Acid in Four Strawberry Cultivars from Different Locations^a

cultivar	location	total anthocyanins ^b	total phenols ^c	TEAC ^d	ORAC ^e	ascorbic acid
'Elsanta'	Germany	345 ± 20 cd	1891 ± 41 bcd	24.0 ± 0.4 cd	31.8 ± 2.2 c	980 ± 24 a
'Elsanta'	Switzerland	389 ± 8 c	2312 ± 90 b	30.4 ± 1.9 b	38.0 ± 1.0 b	777 ± 24 b
'Elsanta'	Denmark	266 ± 30 d	3090 ± 259 a	37.7 ± 2.1 a	55.2 ± 1.8 a	853 ± 36 ab
'Clery'	Germany	596 ± 57 b	1844 ± 35 cd	25.6 ± 0.5bcd	35.7 ± 2.5 bc	751 ± 11 b
'Clery'	Switzerland	659 ± 18 ab	2211 ± 83 bc	29.9 ± 0.7 b	35.3 ± 1.2 bc	816 ± 66 b
'Korona'	Germany	726 ± 21 a	1574 ± 36 d	22.9 ± 0.9 d	35.7 ± 2.1 bc	592 ± 63 cd
'Korona'	Denmark	566 ± 16 b	1987 ± 152 bcd	28.2 ± 1.3 bc	38.7 ± 1.7 b	586 ± 41 d
'Everest'	Germany	416 ± 42 c	1931 ± 109 bcd	27.5 ± 2.0 bcd	37.1 ± 0.4 bc	730 ± 23 bc

^aData are expressed as the mean ± standard deviation ($n = 3$). Means within the same column followed by different letters were significantly different at $p \leq 0.01$. ^bData are expressed as micrograms of pelargonidin 3-glucoside equivalents per gram of fresh weight. ^cData are expressed as micrograms of gallic acid (GAE) equivalents per gram of fresh weight. ^dData are expressed as micromoles of Trolox equivalents per gram of fresh weight. ^eData are expressed as micrograms of pelargonidin 3-glucoside equivalents per gram of fresh weight.

^oN), and Agroscope, Changins-Wädenswil, Switzerland (CH) (46 °N). In addition, a second cultivar adapted to the local climate (cv. 'Korona' in DK, cv. 'Clery' in CH) was examined. Therefore, eight samples were examined.

Agronomic procedures (mulching, irrigation, weeding, fertilizer use, etc.) were not standardized but were the commercial standard for each site, and as such the fruit was as close as possible in quality to that available to the consumer in that locale. The temperature during the ripening period was averaged over the 28 days of harvest and was 14.2 °C at the growing site in DK, 16.4 °C in D, and 17.4 °C in CH. Further detailed climatic and agronomical data including radiation, precipitation, yield, and altitude are available in related publications.^{21,52} One week after the start of harvest, samples containing ~500 g of healthy and undamaged ripe fruit were taken. The date of sampling for each location and cultivar is given in Table 1. Each fruit was sliced into quarters. To avoid bias, two counterparts of the fruit quarter were immediately snap-frozen in liquid nitrogen, stored at -28 °C, and pulverized later to a fine powder using a mortar and pestle. The soluble solid content of the thawed powder was measured directly using a digital refractometer (A. Krüss Optotronic GmbH, Hamburg, Germany). For each treatment listed in Table 1, the three biological replicates were extracted separately, and the resultant extracts were analyzed twice as described below (i.e., 24 samples = 3 × 8).

Sample Extraction. Samples were extracted as described previously.²³ For ascorbic acid content, 5.0 g of frozen strawberry powder from each sample was extracted twice with 2% (w/v) oxalic acid. For all other parameters except LC-MS analysis of tannin composition, 5.0 g of powder was extracted twice with 10 mL of 80% (v/v) methanol and made up to a final volume of 25 mL.

Determination of Total Phenols (TP), Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC), Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC), Ascorbic Acid (AsA), and Total Monomeric Anthocyanin Content (TMA). Ascorbic acid (AsA) concentration was estimated by iodometric titration.²¹ TMA concentrations were determined by the pH differential method,²⁴ and the results were expressed as micrograms pelargonidin-glucoside per gram fresh weight (FW) using a molar absorption coefficient of 15600 L mol⁻¹ cm⁻¹. Antioxidant capacity was analyzed using three different assays: total phenol (TP) contents were determined by the Folin-Ciocalteu method²⁵ using gallic acid (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) as the reference compound and expressed in micrograms gallic acid equivalents (GAE) per gram FW. The TEAC assay²⁶ was carried out using 2,2'-azinobis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) with slight modifications. The ABTS radical cation was generated overnight with potassium persulfate to a final absorbance of 0.800 ± 0.050 at 734 nm. Antioxidant capacity was expressed in micromoles Trolox equivalents (TE) per gram FW. The ORAC assay was applied²⁷ using fluorescein, a black 96-well plate, and a microplate reader (Infinite m200; Tecan, Crailsheim, Germany). Fluorescence was recorded every minute for 90 min at 37 °C, with an excitation wavelength of 485 nm and an emission wavelength of 520 nm. ORAC values were calculated by

linear regression of the area under the kinetic curve using Magellan software (Tecan) and expressed as micromoles TE per gram FW.

Extraction Procedure and Sephadex LH-20 Fractionation for Tannin-Rich Fractions. Five grams of frozen strawberry powder was extracted with 5 mL of acetonitrile containing 0.2% formic acid by shaking vigorously for 1 h in the dark and then centrifuged at 4000g for 10 min at 4 °C. The supernatant was evaporated by rotary evaporation, and then the dried extracts were dissolved in 2.5 mL of 50% (v/v) ethanol. The procedure utilized the differential binding of tannins to Sephadex LH-20 in aqueous alcohol and aqueous acetone (see <http://www.users.muohio.edu/hagermae/>). Sephadex LH-20 was swollen (5 g in 50 mL of 70% (v/v) acetone) and then equilibrated in 50% (v/v) ethanol overnight. A slurry was produced by resuspending the settled material in 10 mL of 50% ethanol. For fractionation, a 1 mL aliquot of the Sephadex LH-20 slurry was mixed with 1 mL of dissolved extracts, centrifuged, and washed four times with 1 mL of 50% ethanol. Further washing did not elute further unbound phenolics. The tannin-rich fraction was eluted with 2 × 1.0 mL of 70% acetone. The bound samples routinely had a TPC around 4000 µg GAE/mL. The supernatants were collected, evaporated to dryness, and resuspended in 200 µL of 5% acetonitrile/water containing 0.1% formic acid for further analysis.

Liquid Chromatography–Mass Spectrometry (LC-MS). Samples of resolubilized extracts were analyzed on a LCQ-DECA system, comprising a Surveyor autosampler, pump, and photodiode array (PDA) detector and a ThermoFinnigan mass spectrometer ion trap controlled by Xcalibur software. The PDA detector scanned three discrete channels at 280, 365, and 520 nm. Solvent A was 0.1% formic acid in ultrapure water, and solvent B was 0.1% formic acid in acetonitrile. The mass data were collected in a negative mode scanning over the mass range m/z 80–2000. The MS detector was tuned against ellagic acid in a negative mode. Two scan events were employed in all LC-MS runs; full scan analysis was followed by data-dependent MS/MS of the most intense ions using collision energies of 45% source voltage (set at 3 kV). The capillary temperature was set at 250 °C, with sheath gas at 60 psi and auxiliary gas at 15 psi. The extracts were analyzed with two methods: an abbreviated chromatography mass spectrometry (ACMS) method, developed previously McDougall et al.,²² was employed. The ACMS method uses a rapid, partial separation on a short C₁₈ column (Synergi; 20 × 2 mm, 2.5 µm; MAX-RP 100A Mercury; Phenomenex Macclesfield, UK).²² The samples were eluted with a gradient of 98:2 solvent A/B at time = 0 min, 50:50 at time = 3 min, 35:65 at time = 5 min, and 5:95 at time = 6.5 min at a flow rate of 200 µL min⁻¹. The duration of each run was 10 min. Each sample was analyzed in triplicate in a randomized order. The variation in peak area by PDA between replicate ACMS runs was <2% (results not shown).

For detailed investigations, the samples were analyzed using our conventional LC-MS method. This employed a longer column (Synergi Hydro-RP C18 80A; 150 × 4.6 mm, 4 µm; Phenomenex) with a gradient of 95:5 solvent A/B at time = 0 min to 55:45 A/B at time = 30 min. The duration of each run was 45 min with a flow of 400 µL min⁻¹. Each sample was analyzed in duplicate in a randomized order. After

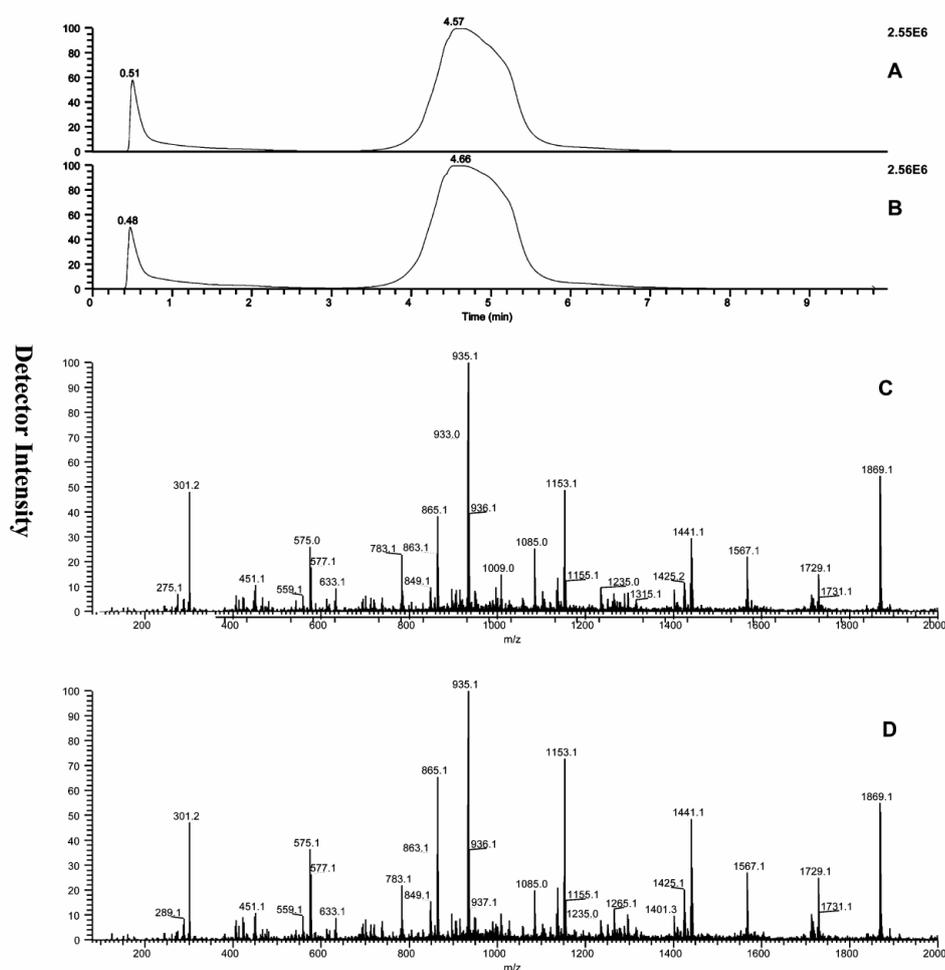


Figure 1. UV chromatograms and MS spectra from the ACMS method on two strawberry tannin-rich samples: (A) UV chromatogram of 'Elsanta' sample from Switzerland; (B) UV chromatogram of 'Elsanta' sample from Denmark (the figure in the top right corner is the full scale deflection of the PDA detector at 280 nm); (C) MS spectra of of 'Elsanta' sample from Switzerland, FSD = 9.9e6; (D) MS spectra of 'Elsanta' sample from Denmark, FSD = 8.6e6.

identification of putative components by their mass spectra, the peak area of the specific m/z value for each molecule was obtained using the extracted ion chromatogram facility of the Xcalibur software. The advantage of this method is that a complete separation of the peaks is not necessary for their quantification. For the proanthocyanidin components, only the percentage distribution was estimated because of the lack of available standards and some overlap of peaks. The ellagitannin components were expressed as ellagic acid equivalents based on m/z peak areas. This approach probably consistently underestimates ellagitannin content, but the results are comparable between samples.

Statistical Analysis. The mass spectrum for each sample of the main included peak over 3–7 min (Figure 1) resulting from the partial separation was exported to a Microsoft Excel data sheet. The data were normalized by dividing each mass intensity (m/z 100–2000) by the total intensity of the combined total masses. A principal component analysis (PCA) was performed using Unit Variance (UV) scaling, which gives equal weight to all masses. This analysis was performed using SIMCA P+ version 12 (Umetrics, Crewe, UK). All other data were analyzed statistically with analysis of variance using SPSS (version 17). Variances highlighted a lack of homogeneity; therefore, Tukey's honestly significant difference (HSD) test was applied with a level of significance of 99%. Results were given as the mean \pm standard

deviation. Furthermore, the correlation of all results was tested by Spearman.

RESULTS

Total Monomeric Anthocyanin (TMA), Total Phenol Content (TP), and Antioxidant Capacity. There was a large variation in total phenol content (TP) between cultivars and within cultivars grown in different locations (Table 1). For example, 'Elsanta' grown in Denmark had significantly higher TP than 'Elsanta' grown in Germany and Switzerland but, conversely, significantly lower anthocyanin content. The cultivars gave different levels of AsA, with 'Korona' yielding the least, but this component did not vary significantly between growing locations. In fact, the variation in TP between 'Elsanta' grown in the three locales was 1.6-fold, whereas AsA content varied 1.26-fold. There was a large variation in TMA, and this was especially apparent when expressed as percent of TP; for example, 'Korona' (Denmark) had 46% anthocyanin content, whereas 'Elsanta' (Denmark) had 8%. Despite previous results,²¹ there was no obvious correlation between latitude of growth and

Table 2. Spearman Correlations of Total Anthocyanins, Total Phenols, Antioxidant Capacity (TEAC, ORAC), Ascorbic Acid, Sum of Proanthocyanidins (PAC), and Sum of Total Ellagitannins (ET) in Four Strawberry Cultivars Grown at Different Locations

	total anthocyanins	total phenols	TEAC	ORAC	ascorbic acid	sum PAC
total anthocyanins	1					
total phenols	-0.545	1				
TEAC	-0.405	0.923	1			
ORAC	-0.324	0.498	0.568	1		
ascorbic acid	-0.615	0.508	0.330	-0.161	1	
sum PAC (peak area)	-0.783	0.409	0.230	0.245	0.513	1
sum ET (peak area)	0.031	0.439	0.503	0.058	0.280	-0.262

TMA, TP, or indeed the proportion of TA compared to TP in the cultivars.

TP correlated with TEAC ($r = 0.952$) but less well with ORAC ($r = 0.606$), which may reflect the different basis of this antioxidant measurement (Table 2).²⁸ Interestingly, TP + AsA slightly improved the correlation with TEAC ($r = 0.966$). Correlation between TP by Folin and other antioxidant measurements has been well established in berry samples²⁹ and may arise because the two methods essentially measure different aspects of redox reactions.²⁸

Characterization of Tannin Diversity of Strawberry Samples Using ACMS. An ACMS method, developed previously,²² was employed to assess the diversity of tannin composition in strawberry cultivars grown in three European locations (Denmark, Germany, and Switzerland). This method uses the MS spectrum (Figure 1C,D) obtained across the retained components from each sample (e.g., RT 3–7 min; Figure 1A,B), which then can be collated and compared using multivariate statistical approaches.

The ACMS spectra of the strawberry tannin extracts were similar to those derived from direct infusion MS (DIMS) methods^{30,31} and were dominated by signals characteristic of ETs and PACs. For example, masses at 1869, 1567, 1401, 1265, 1085, 935, 933, 783, 633, 451, and 301 are characteristic of ETs,^{5,30,32,33} whereas signals at 1729, 1441, 1425, 1153, 865, 849 577, 575, and 289 are characteristic of procyanidin and propelargonidin PACs.^{5,34} Overall, the ACMS method has advantages over DIMS; it is quick and reproducible and reduced problems with ion suppression as the short but steep gradient sufficiently separates and discretely presents the components to the MS detector, leading to higher sensitivity.

PCA plots generated from the ACMS data revealed a distinct separation between the four cultivars grown in Germany (Figure 2A). 'Elsanta' and 'Korona' were clearly separated, mainly on the horizontal axis, from 'Clery' and 'Everest'. The loading plot for this PCA (Figure 2B) suggested that the main differences were in the relative amounts of PACs and ETs in 'Korona' and 'Elsanta' versus 'Clery' and 'Everest', with the former cultivars having higher amounts of signals attributable to PACs (m/z 1729, 1441, 1153, 865, 577, 575, and their isotopic masses; annotated in Figure 2B) and with 'Clery' and 'Everest' having higher amounts of signals characteristic of ETs (m/z 1717, 1085, 935, 933, 783, 633, 301, and their isotopic masses). However, it is notable that certain ET-associated signals (most notably m/z 1401), which can be assigned to lambertianin C-like structures, were not so tightly associated with the positive aspect of PC1 (the aforementioned ET side) and therefore may not have such a strong role in driving this separation.

When the ACMS data were re-examined using orthogonal partial least-squares discriminant analysis (OPLS-DA) to maximize the differences between the cultivars grown in

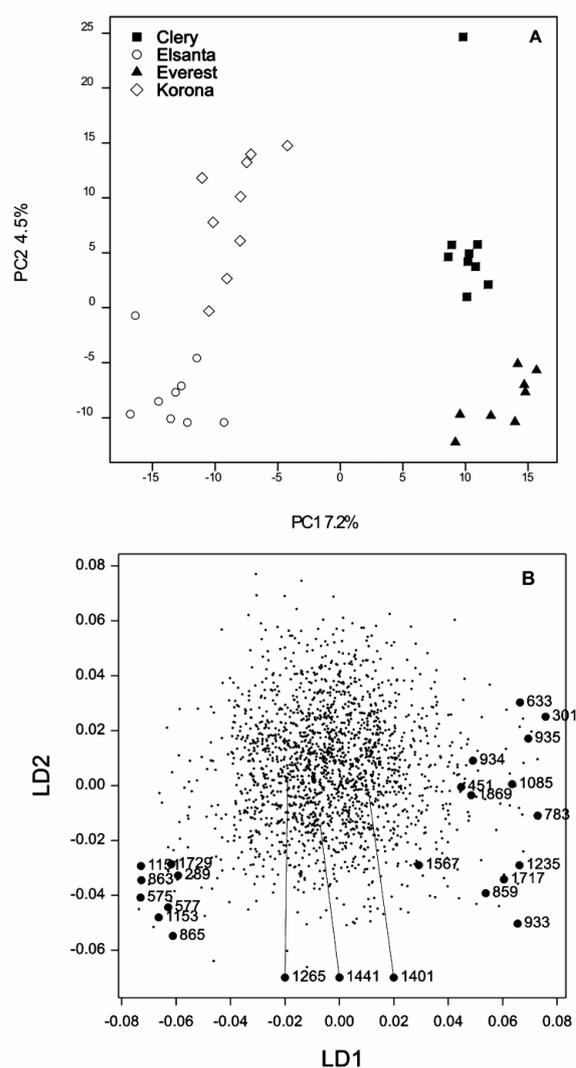


Figure 2. Principal component analysis (PC1 and PC2) of four cultivars, 'Elsanta', 'Clery', 'Korona', and 'Everest', grown at one location (Geisenheim, Germany). Score plot (A) was generated from the samples of the partial separation and loading plot (B) of the mass ions creating the segregation of the observations.

Germany, the same underlying masses were uncovered (see Supporting Information, Figure S1a,b). In addition, separation between cultivars in the vertical axis (especially 'Korona' from

'Elsanta' and 'Clery' from 'Everest') was associated with the presence of certain masses (m/z 269, 431, 473, and their isotopic masses; results not shown), which are almost certainly due to the carry-over of higher amounts of anthocyanin derivatives (pelargonidin-3-*O*-glucoside, $M - H = 431, 269$; and pelargonidin-3-*O*-glucoside malonate, $M - H = 473, 269$; results not shown).

The PCA of the ACMS data from the cultivars grown at different European locations showed another clear separation dependent on location (Figure 3A). It was clear that 'Elsanta' grown in Switzerland separated from those grown in Denmark and Germany along PC1. Similarly, 'Clery' grown in Switzerland separated from 'Clery' grown in Germany, albeit to a lesser extent. In addition, there was a separation between 'Korona'

grown in Denmark and 'Korona' grown in Germany driven by both PC1 and PC2.

An examination of the loading plot (Figure 3B) suggests that, as earlier, the ET-related components were predominantly gathered in the positive region of LD1. Indeed, PCA plots of the separations between individual cultivars grown at the different locations confirmed this trend to higher ET contents at locations outside Germany (results not shown). Nevertheless, the impact of cultivar seems to be stronger than an effect of latitude and growing condition.

In all cases, the PCA explained only a small portion of the variation in the sample sets (i.e., maximum ~7%). This highlights that the ACMS spectra from the strawberry tannin samples contain many similar signals (within the possible 1920 m/z values of the spectra) and these contribute to considerable "background noise". Indeed, none of the PCA models reached the threshold to be deemed robust ($Q^2 > 0.5$). However, all OPLS-DA models generated from the same data (e.g. Supporting Information, Figure S1) were all robust ($Q^2 > 0.5$). Nevertheless, it is remarkable that obvious and consistent differences within the variable element of ~7% were noted.

Characterization of Tannin Diversity of Strawberry Samples Using LC-MS.

Certain ellagitannin and proanthocyanidin peaks could be assigned using conventional LC-MS (Table 3) and their peak areas assessed (Figures 4 and 5). As noted previously, ET and PAC components do not separate completely on reverse phase C_{18} HPLC,³⁰ so some of the estimated peak areas may be affected by in-source competition from other partially coeluting components. However, the estimates are carried out on the same basis, and the peak areas are compared between samples. Overall, the trends noted using ACMS were confirmed by the conventional LC-MS results (Tables 4 and 5). The LC-MS results revealed that the main differences between the cultivars were in the amounts of the ET components and that the PAC components did not vary significantly. The marked separation between the cultivars grown in Germany based on ACMS data (Figure 2A) fits with the higher ET content of 'Everest' and 'Clery' over 'Korona' and 'Elsanta' (i.e., 181 and 203 vs 109 and 145, respectively). In addition, it is apparent that only certain ETs were increased in abundance. In 'Elsanta', it was most notable that the amounts of castalagin- and potentillin-like masses increased (m/z 933 and 935; peaks 16 and 17 but not 19) with a significant increase in a cornusiin-B-like ET (m/z 1085; peak 24 but not peak 25). This fits with the suggestion from the ACMS data that there was no overall increase in ET species. Correlations between the LC-MS and ACMS results may be partly obscured by in-source fragmentation in ACMS as, for example, increased signals at m/z 935 may also increase signals at m/z 63, but peak 15 (strictinin) may not have increased in its own right. In addition, doubly charged ions ($[M - H]^{2-}$) may also complicate any correlation. This is illustrated by the "peak" at m/z 934 (peak 19, Figure 5), which largely coelutes with the peak at m/z 1869 (peak 21, agrimoniin, Figure 5) and is due to doubly charged ions ($[M - H]^{2-}$).

Although ETs were increased in 'Clery' grown in Switzerland rather than Germany, the pattern is different with the overall increase (which was higher than in 'Elsanta') being spread across a wider range of ET species. It is notable that 'Korona' grown in Germany had lower levels of ETs than those grown in Denmark. In addition, the changes were subtly different from the other cultivars. This fits with the trend in the ACMS data (Figure 3 A,B), where the separation between these samples was less obvious.

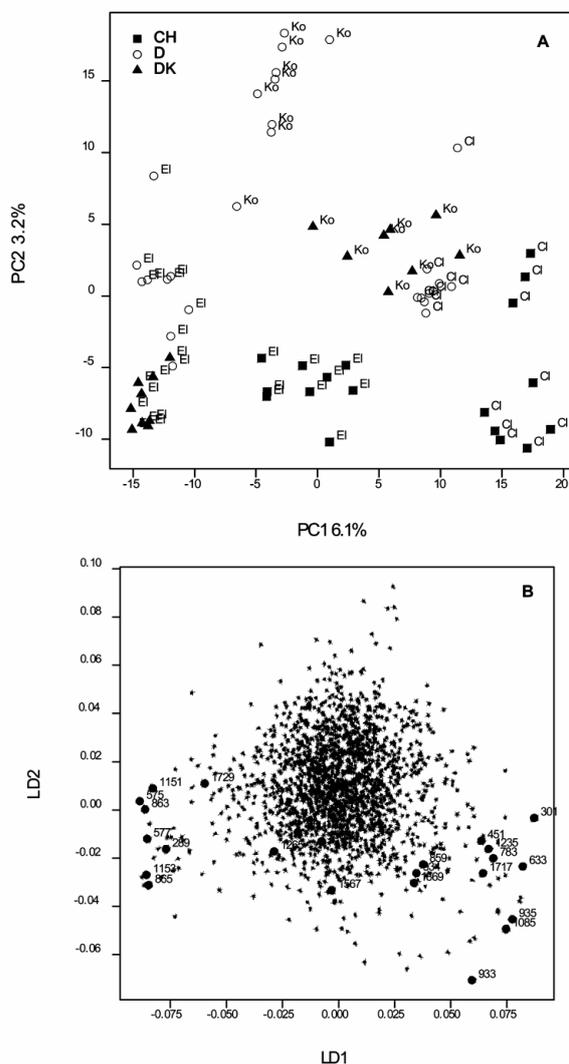


Figure 3. Principal component analysis (PC1 and PC2) of the cultivars 'Elsanta', 'Clery', and 'Korona' grown at three different locations (Denmark, Germany, Switzerland). Score plot (A) was generated from the samples of the partial separation and loading plot (B) of the mass ions creating the segregation of the observations.

Table 3. Putative Assignments of Peaks Analyzed by LC-MS

peak	putative component ^a	RT	λ_{\max}	m/z [M - H] ^b	MS ^{2c}
1	PAC trimer (EC3)	8.1	250	865.1,	<u>695.0</u> , 577.0, 574.9, 574.9, 451.1, 289.0
2	PAC trimer (EC3)	11.3	245	865.1	<u>695.0</u> , 577.0, 407.0
3	PAC trimer (EC2F)	11.6	240	849.1	<u>577.0</u> , <u>558.9</u> , 407.1
4	PAC dimer (EC2)	14.7	240	577.1	451.0, <u>424.9</u> , 406.9, 289.0
5	PAC dimer (EC2)	15.2	240	577.1	451.1, 424.9, <u>406.9</u> , 289.0
6	PAC tetramer (EC4)	15.7	240	1153.1	N.D.
7	PAC trimer (EC3)	16.5	245	865.1,	<u>695.0</u> , 577.1, 404.1 577.1
8	PAC tetramer (EC4)	18.1	245	1153.1	N.D.
9	PAC trimer (EC2F)	18.6	245	849.1	<u>577.0</u> , <u>558.9</u> , 407.1
10	PAC trimer (EC3)	19.2	240	865.1,	451.0, 424.9, <u>406.9</u> , 577.1, 289.0
11	PAC pentamer/ tetramer (EC4/5)	19.6	240	1441.0, 1153.1	N.D.
12	pedunculagin	12.0	240	783.1, 301.1	480.9, <u>301.1</u> , 275.1
13	pedunculagin	13.0	240	783.1, 301.1	480.9, <u>301.1</u> , 275.1
14	pedunculagin	14.5	245	783.1, 301.1	480.9, <u>301.1</u> , 275.1
15	galloyl-HHDP glucose	15.8	245	633.1	463.0, <u>301.1</u>
16	sanguin H6 minus galloyl	18.6	245	1716.9	1414.8, 1235.1, 1112.9, <u>932.9</u> , 915.0, 783.1
17	castalagin-like ET	19.5	245	933.1	897.0, 631.0, <u>451.1</u> , 301.1
18	potentillin-like ET	20.0	240	935.0	633.0, 480.9, <u>301.1</u>
19	ET (933 + HHDP)	20.2	245	1235.0	<u>933.0</u> , 631.0, 468.9
20	castalagin-like ET	20.9	245	933.1	<u>633.0</u> , 451.1, 301.1
21	agrimonin	20.9	240	1868.9	1566.9, 1414.9, 1265.1, 1235.0, <u>933.0</u> , 631.1
22	lambertianin C	21.3	240	1401.2	<u>1868.9</u> , 1566.7, 1264.9, 1234.8, 934.9
23	castalagin-like ET	22.5	240	933.0	630.9, <u>451.1</u> , 301.1
24	castalagin-like ET	23.9	245	933.1	631.0, <u>451.1</u> , 301.1
25	cornusiiin B-like ET	24.1	245	1085.0	897.0, 783.0, 633.1, <u>451.1</u>
26	cornusiiin B-like ET	26.2	240	1085.0	897.0, 783.0, 633.1, <u>451.1</u>

^aPutative assignments are supported by data from previous papers.^{11,30,32,35,37} EC, epicatechin unit; EC3, procyanidin trimer; EC2F, propelargonidin trimer containing one epiafzelchin (F) unit. ^b m/z values in bold were the predominant ions. ^cUnderlined m/z values were the main MS² fragments. ND, not determined.

A range of peaks were identified with m/z values consistent with proanthocyanidins previously identified in strawberry^{4,30} including m/z signals at 577, 865, 1153, and 1441 characteristic of procyanidin dimers, trimers, tetramers, and pentamers.^{5,36} Other peaks with m/z signals characteristic of propelargonidin proanthocyanidins (i.e., proanthocyanidins containing at least one (epi)afzelechin unit), for example, at 849, were also evident (Table 2). Signals characteristic of other propelargonidin proanthocyanidins (m/z 833, 1425, etc.) were noted in ACMS spectra, but these more minor components could not be identified as distinct peaks in the conventional LC-MS runs. Strawberry fruit has been found to contain a complex mixture of PACs ranging from dimers, trimers, tetramers, etc., to polymers^{5,34} of both procyanidin and propelargonidin types. The mean degree of polymerization has been defined at 6.3.³⁴

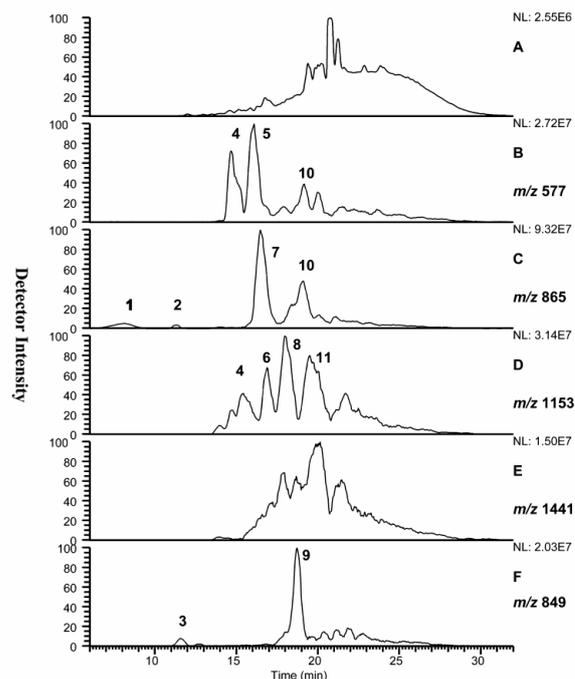


Figure 4. Extracted ion chromatograms of proanthocyanidin components: (A) UV trace at 280 nm; (B) m/z 577; (C) m/z 865; (D) m/z 1153; (E) m/z 1441; (F) m/z 849. Peak numbers refer to Table 4.

RP-HPLC does not completely separate PACs,^{5,30} and the use of these MS techniques cannot report on higher polymerized PACs (the limit of detection is 2000 amu). However, analysis of higher molecular weight PACs is feasible, for example, using MALDI-ToF-MS methods to characterize up to 12-mers.³⁷ However, in this study, the conventional LC-MS approach reported on only up to pentamer PACs (m/z 1441), although signals from putative hexamers (m/z 1729, etc.) were noted in the ACMS spectra. Nevertheless, 11 PAC oligomers were identified and quantified in the strawberry cultivars (Figure 4; Tables 3 and 5). Interestingly, the detected PAC composition did not vary significantly and was not influenced by either cultivar or origin (Table 5). Differences were observed only in the sum of the total peak area. The sum of detected PACs showed a strong negative correlation to the total anthocyanin content (Table 2). ETs were not correlated to total anthocyanins and only slightly negatively correlated to PACs. The contribution to total phenols and TEAC was comparable for both tannin groups (ETs and PACs).

DISCUSSION

It is well-known that different cultivars of strawberries differ in their phenolic content and composition.^{16,19,38} Most obviously, strawberry cultivars may differ in coloration, which may be caused by increased levels of anthocyanins or differences in the proportion of pigmented tissues.^{23,39,40} The strong genotypic determinant underlying phenolic content is the basis for breeding efforts to increase the total phenolic content or modulate the phenolic composition, such as increasing (specific) anthocyanin content.⁴¹ However, the effects of interactions between genotype and environment on phenolic content have been less well-defined.⁴² Many studies have focused on one

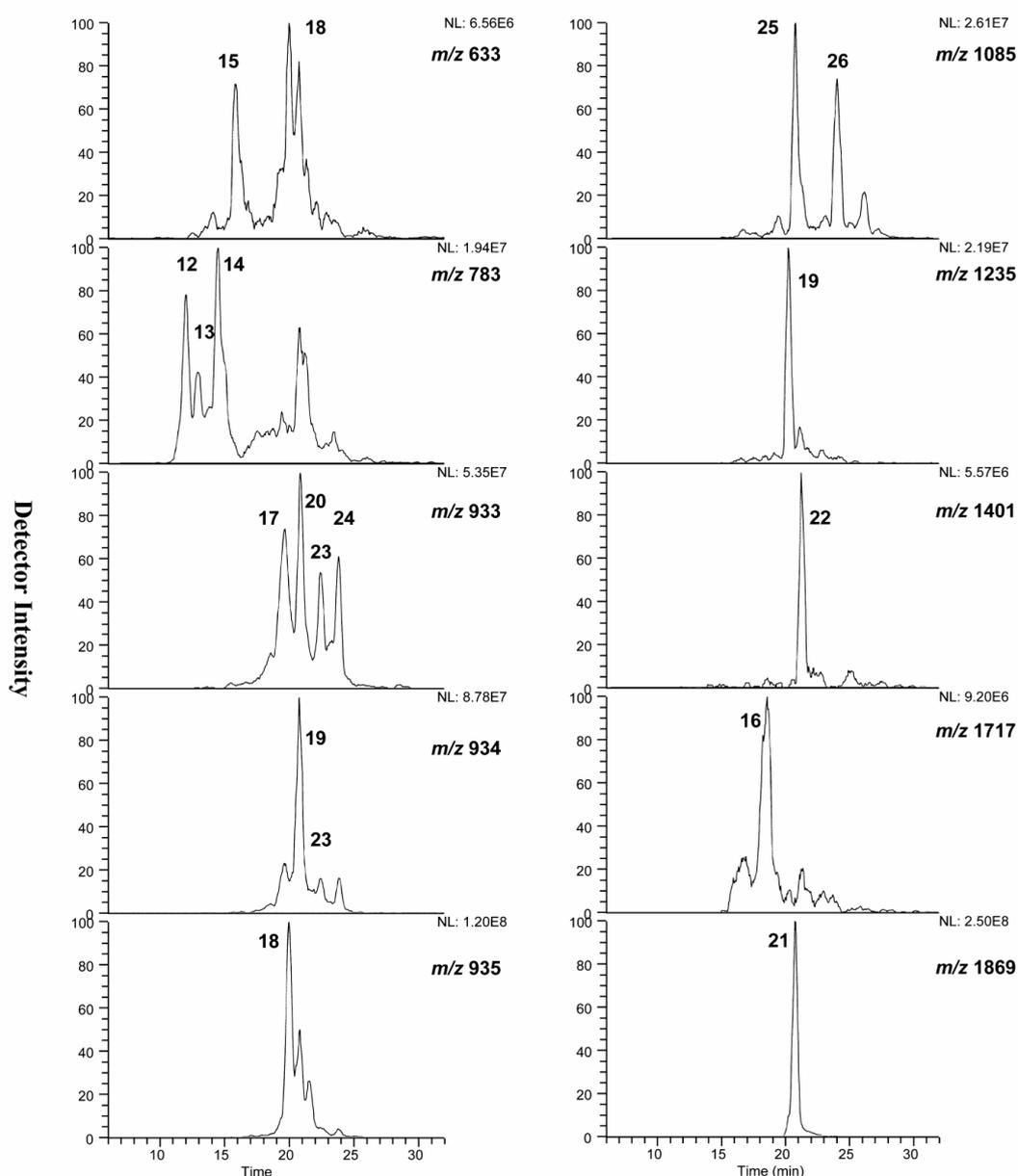


Figure 5. Extracted ion chromatograms of ellagitannin components. M – H m/z values are annotated. Peak numbers refer to Table 4.

cultivar under different field conditions or at different locations or have focused on one possible stressor such light quality, temperature, or water supply.^{23,43–45} However, others have examined a range of genotypes over a number of growing seasons. For example, there was substantial year-to-year variation in TP and TMA overlying the genotypic ranking of the strawberry cultivars and lines, possibly due to differing growing temperatures between seasons.⁴⁶ Another study⁴⁷ reported that four strawberry cultivars grown at two locations in Switzerland that differed in altitude (480 and 1060 m above sea level) and

other agronomic conditions showed no significant interactions between site and cultivar for TMA or antioxidant capacity and showed the same ranking of genotypes in both locations. However, the yield was significantly decreased at higher altitudes.

The effects of $G \times E$ interactions on phenolic composition have been less examined in strawberry. Our study suggested that the tannin compositions of strawberry cultivars grown at different locations differ in their ET/PAC balance. In particular, cultivars grown in Switzerland had higher ET levels than those grown in Germany. In addition, cultivars grown in Denmark had

Table 4. Ellagitannin Components in Four Strawberry Cultivars from Different Locations

peak	'Elsanta'			'Clery'		'Korona'		'Everest'
	Germany	Switzerland	Denmark	Germany	Switzerland	Germany	Denmark	Germany
12	3.1 ± 0.6 bc	4.0 ± 0.5 b	3.0 ± 0.5 bc	3.7 ± 0.4 b	7.0 ± 1.2 a	1.9 ± 0.1 c	2.6 ± 0.8 bc	3.8 ± 0.4 b
13	1.5 ± 0.2 bc	2.0 ± 0.3 b	1.8 ± 0.3 b	1.9 ± 0.4 b	3.6 ± 0.9 a	0.8 ± 0.1 c	1.3 ± 0.4 bc	2.0 ± 0.4 b
14	3.2 ± 0.6 bcd	4.2 ± 0.4 b	3.4 ± 0.4 bc	3.8 ± 0.4 bc	7.1 ± 1.3 a	2.0 ± 0.2 d	2.6 ± 0.8 cd	4.0 ± 0.5 bc
15	4.4 ± 0.8 bc	6.8 ± 1.0 b	4.5 ± 0.8 bc	6.1 ± 1.1 b	12.2 ± 2.3 a	3.5 ± 0.4 c	4.4 ± 0.8 bc	4.4 ± 0.8 bc
16	2.7 ± 0.5 cd	3.4 ± 0.2 cd	4.0 ± 1.3 cd	5.5 ± 0.6 c	8.5 ± 1 b	1.5 ± 0.4 d	4.5 ± 3.2 c	13.9 ± 1 a
17	9.7 ± 1.2 de	18.0 ± 1.1 b	11.6 ± 2.3 cd	9.8 ± 0.8 de	23.1 ± 2.8 a	7.4 ± 0.8 e	11.4 ± 2.9 cde	15.3 ± 2.2 bc
18	22.9 ± 4.1 cd	34.5 ± 3.8 cd	25.2 ± 3.5 cd	60.0 ± 4.1 b	87.7 ± 14.8a	20.6 ± 2.1 c	28.7 ± 8.3 d	35.7 ± 4.9 c
19	3.5 ± 0.5 cd	5.7 ± 1.2 bc	4.9 ± 1 bcd	5.1 ± 0.9 bcd	7.2 ± 0.8 b	3.1 ± 0.3 d	5.5 ± 2.1 bc	9.5 ± 0.8 a
20	17.7 ± 4.2 a	18.9 ± 3.3 a	24.3 ± 5.3 a	17.2 ± 3.5 a	19.5 ± 4.3 a	15.4 ± 3.1 a	16.4 ± 3.5 a	16.6 ± 2.5 a
21	44.3 ± 6.3 bc	49.3 ± 4.4 ab	60.5 ± 15.1 a	39.8 ± 4.8 bc	39.5 ± 5.4 bc	31.2 ± 3.7 c	40.7 ± 8 bc	36.9 ± 2.5 bc
22	1.4 ± 0.5 a	1.3 ± 0.4 a	2.4 ± 1.4 a	1.9 ± 0.5 a	2.0 ± 0.3 a	0.8 ± 0.4 a	1.8 ± 0.7 a	2.2 ± 0.7 a
23	3.4 ± 0.7 cd	6.8 ± 0.6 b	3.6 ± 1.2 cd	2.8 ± 0.3 cd	9.4 ± 1.2 a	2.1 ± 0.3 d	4.2 ± 1.4 cd	4.5 ± 1.2 c
24	3.3 ± 0.4 de	5.3 ± 0.4 bc	3.5 ± 0.5 de	6.0 ± 0.4 b	12.3 ± 1.5 a	2.4 ± 0.2 d	3.9 ± 0.9 cd	4.1 ± 0.6 cd
25	17.2 ± 2.2 de	27.0 ± 1.7 bc	17.1 ± 2.3 de	31.1 ± 2.4 b	62.5 ± 7.6 a	12.8 ± 0.9 e	19.4 ± 3.7 cde	22.1 ± 4 cd
26	6.5 ± 0.5 c	9.4 ± 1.5 b	7.1 ± 1.3 bc	8.1 ± 0.7 bc	16.2 ± 1.6 a	3.6 ± 0.5 d	5.7 ± 1.4 cd	6.1 ± 1.1 c
sum	144.9 ± 16.7 cd	196.4 ± 42.2 bc	177.1 ± 31.2 bc	202.9 ± 17.1 b	317.8 ± 42.2 a	109.0 ± 9.7 d	152.8 ± 33.5 bcd	181.1 ± 17.2 bc

^aData are expressed as the mean ± standard deviation ($n = 6$). Means within the same row followed by different letters were significantly different at $p \leq 0.01$ and are highlighted in bold. Data are expressed as micrograms of ellagic acid equivalents per gram of fresh weight.

Table 5. Percentage Distribution of Proanthocyanidin Components in Four Strawberry Cultivars from Different Locations^a

peak	'Elsanta'			'Clery'		'Korona'		'Everest'
	Germany	Switzerland	Denmark	Germany	Switzerland	Germany	Denmark	Germany
1	1.4 ± 0.2 ab	1.7 ± 0.4 a	1.1 ± 0.3 b	1.9 ± 0.2 a	1.7 ± 0.3 a	1.4 ± 0.1 ab	1.4 ± 0.3 ab	1.9 ± 0.2 a
2	0.3 ± 0.0 a	0.4 ± 0.1 a	0.3 ± 0.1 a	0.5 ± 0.1 a	0.4 ± 0.1 a	0.3 ± 0.0 a	0.4 ± 0.1 a	0.4 ± 0.1 a
3	0.2 ± 0.0 b	0.2 ± 0.1 b	0.1 ± 0.1 b	0.5 ± 0.1 a	0.4 ± 0.1 a	0.3 ± 0.1 b	0.3 ± 0.1 b	0.5 ± 0.1 a
4	1.0 ± 0.1 bc	1.0 ± 0.2 bc	0.9 ± 0.2 bc	1.4 ± 0.2 ab	1.2 ± 0.2 abc	0.8 ± 0.1 c	1.2 ± 0.3 abc	1.5 ± 0.3 a
5	2.2 ± 0.4 a	2 ± 0.2 a	2.6 ± 1.2 a	2.3 ± 0.3 a	2.2 ± 0.6 a	1.7 ± 0.2 a	1.7 ± 0.4 a	2.0 ± 0.4 a
6	10.9 ± 1.0 b	11.8 ± 0.7 ab	11.1 ± 2 ab	13.2 ± 1.6 a	12.2 ± 2.3 ab	9.9 ± 0.9 b	12.3 ± 3.1 ab	13.1 ± 4 a
7	12.4 ± 0.7 abc	13.2 ± 0.4 ab	12.6 ± 0.5 abc	13.6 ± 0.3 a	12.9 ± 0.3 abc	11.7 ± 0.7 c	12.1 ± 1.2 bc	12.6 ± 0.6 abc
8	27.3 ± 1.2 a	26.6 ± 1.3 a	27.3 ± 4.2 a	26.5 ± 1.7 a	25.3 ± 1.2 a	27.2 ± 1 a	25.8 ± 1.8 a	23.5 ± 1.8 a
9	2.1 ± 0.6 b	2.2 ± 0.7 b	2 ± 0.3 b	3.6 ± 0.6 ab	4 ± 0.5 a	2.9 ± 0.6 ab	2.7 ± 1 ab	3.2 ± 1.2 ab
10	6.7 ± 0.5 a	6.5 ± 1.1 a	6.5 ± 1.6 a	6.1 ± 1.2 a	6.6 ± 1.5 a	6.6 ± 1 a	6.5 ± 1.4 a	6.2 ± 1.2 a
11	35.6 ± 2.3 a	34.5 ± 1.1 ab	35.2 ± 3.2 a	30.6 ± 1.2 b	34.5 ± 1.4 ab	37.2 ± 1.5 a	35.7 ± 3 a	35.1 ± 2.1 a
∑ peak area	6.13 × 10 ⁹ b	4.67 × 10 ⁹ c	7.65 × 10 ⁹ a	2.31 × 10 ⁹ d	2.38 × 10 ⁹ d	3.17 × 10 ⁹ d	2.63 × 10 ⁹ d	3.02 × 10 ⁹ d
% peak area	100.0	76.2	124.8	38.8	37.7	49.3	42.9	51.7

^aData are expressed as the mean ± standard deviation ($n = 6$). Means within the same row followed by different letters were significantly different at $p \leq 0.01$.

higher ET levels than those grown in Germany. It is notable that the ACMS method discriminated between the samples on the basis of cultivar and location and was generally accurate in highlighting the trend toward increased ET content. However, it is clear that the alterations in ET/PAC balance are not a simple matter of latitude and may result from differing climatic conditions or agronomic practices at the different sites. Of course, this study is only indicative as the data are from only one year and require further research to tease out influences due to differences in agronomic procedures and local climatic conditions.

One of the main observations of the ACMS study was that the relative levels of signals characteristic of PACs and ETs differed in cultivars grown in different locations in Europe. The LC-MS analysis confirmed these differences in ET/PAC balance and suggested that the levels of PACs in individual cultivars were relatively unaffected by the latitude of growth but that the ET

composition was more plastic in response. Previous work has shown significant environmental effects on PAC composition in strawberry cultivars grown in northern and southern Italy,⁴⁸ but the differences in composition (i.e., catechin/epicatechin ratio and mDP) were not accompanied by altered total PAC content. However, although this study also indicated higher flavonol content in the northern cultivars, the levels of ellagitannins were not studied.

The reasons for the observed alteration in ET/PAC balance are not known. The effects of latitude on phenolic composition have been discussed in a recent review.⁴⁹ A trend toward higher anthocyanin content with elevated growth temperature has been noted in strawberries,⁴⁵ but it is difficult to factor out other influences such as differences in rainfall, sunlight, day length, etc. A study of raspberries (cv. 'Glen Ample') grown under tightly controlled conditions where only temperature was altered showed that levels of the main ellagitannins (sanguin H-6 and

lambertianin C) increased with increasing temperature.⁵⁰ These results are in agreement with temperature studies on strawberry, where ETs were lower in fruit grown under cooler conditions.³ Allowing for considerable cultivar-dependent variation, the ellagitannin levels of the strawberry fruit in our study were generally higher in Switzerland and Denmark than in Germany. Therefore, the average temperatures during fruit development in Switzerland, Denmark, and Germany (17.4, 14.2, and 16.4 °C, respectively) do not support a simple role for temperature in ET levels in these fruit. Mean fruit weight was increased by lower growth temperature without affecting dry matter.^{43,51} Increased fruit size may increase the ratio of flesh to achenes. As the content of ET compounds can be up to 100 times higher in achenes than in flesh,⁵³ this could reduce ET levels. After consideration, our results may be influenced the effect of temperature through relative achene content or perhaps achene size. ETs differ in their spatial location, and ET composition may differ at the organ level (e.g., many castalagin-like ETs occur mainly in the seeds, whereas agrimoniin-like ETs are mainly located in the receptacle⁵⁴). Therefore, further research is necessary to clarify the occurrence of ET distribution in achenes and flesh and to elucidate the role of temperature.

The effect of environmental stresses on the levels of different polyphenol components must be controlled at the biosynthetic level. ET biosynthesis remains refractory,⁵⁵ but ETs are believed to originate from gallic acid, which is formed from shikimate. Proanthocyanidins arise from catechin units, and therefore regulation of their biosynthesis must occur at different levels of the biosynthetic pathway. Indeed, the correlation of anthocyanin content with PAC content but not with ET content suggests differential control of accumulation or biosynthesis. Ellagitannins and proanthocyanidins are generally synthesized early in fruit development^{48,54} and tend to decline in fresh weight terms during ripening. In contrast to the majority of the ETs, PACs are found both in the flesh and in achenes.^{53,54}

ET levels contribute substantially to antioxidative capacity in strawberry⁴ and are second only to vitamin C levels. Various studies have suggested that ETs may have potentially important bioactivities.^{56,57} Therefore, variation in ET content and composition may be an important criterion for selection of fruits for health benefits. Monitoring phenolic, and tannin, composition of fruit grown under different conditions using high-throughput techniques such as ACMS will help us understand the interplay of genetic or environmental influences to aid in the selection of new cultivars with enhanced qualities for a changing climate.

■ ASSOCIATED CONTENT

📄 Supporting Information

Additional figure. This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>.

■ AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

*Phone: +44 1382 568782. Fax: +44 8449 028 5429. E-mail: gordon.mcdougall@hutton.ac.uk.

Present Address

[#]Institut für Produktqualität, Teltowkanalstr. 2, 12247 Berlin, Germany.

Funding

We are grateful for a short-term scientific mission awarded to M.J. by COST Action 863 (Euroberry). D.S. and G.McD.

acknowledge funding from the Scottish Government Rural and Environment Science and Analytical Services Division, Climatefruit (Interreg IVB) and EUBerry FP7-KBBE-2010-265942

Notes

The authors declare no competing financial interest.

■ ACKNOWLEDGMENTS

We thank Torben Toldam-Anderson (Department of Agricultural Sciences from Copenhagen University, Denmark) and Christoph Carlen (Research Station Agroscope Changins-Wädenswil, Switzerland) and their teams for supplying the strawberry samples.

■ REFERENCES

- (1) Hannum, S. M. Potential impact of strawberries on human health: a review of the science. *Crit. Rev. Food Sci.* **2004**, *44*, 1–17.
- (2) Seeram, N. P. Berry fruits: compositional elements, biochemical activities, and the impact of their intake on human health, performance, and disease. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 627–629.
- (3) Tomás-Barberán, F. A.; Espin, J. C. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *J. Sci. Food Agric.* **2001**, *81*, 853–876.
- (4) Aaby, K.; Ekeberg, D.; Skrede, G. Characterization of phenolic compounds in strawberry (*Fragaria × ananassa*) fruits by different HPLC detectors and contribution of individual compounds to total antioxidant capacity. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 4395–4406.
- (5) Buendía, B.; Gil, M. L.; Tudela, J. A.; Gady, A. L.; Medina, J. J.; Soría, C.; López, J. M.; Tomás-Barberán, F. A. HPLCMS analysis of proanthocyanidin oligomers and other phenolics in 15 strawberry cultivars. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 3916–3926.
- (6) Seeram, N. P.; Lee, R.; Scheuller, H. S.; Heber, D. Identification of phenolic compounds in strawberries by liquid chromatography electrospray ionization mass spectroscopy. *Food Chem.* **2006**, *97*, 1–11.
- (7) Törrönen, R. Sources and health effects of dietary ellagitannins. In *Chemistry and Biology of Ellagitannins: An Underestimated Class of Bioactive Plant Polyphenols*; Quideau, S., Ed.; World Scientific Publishing: Singapore, 2009; pp 298–319.
- (8) Beekwilder, J.; Jonker, H.; Meesters, P.; Hall, R. D.; van der Meer, I. M.; Ric de Vos, C. H. Antioxidants in raspberry: on-line analysis links antioxidant activity to a diversity of individual metabolites. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 3313–3320.
- (9) Ross, H. A.; McDougall, G. J.; Stewart, D. Antiproliferative activity is predominantly associated with ellagitannins in raspberry extracts. *Phytochemistry* **2007**, *68*, 218–228.
- (10) McDougall, G. J.; Ross, H. A.; Ikeji, M.; Stewart, D. Berry extracts exert different antiproliferative effects against cervical and colon cancer cells grown in vitro. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 3016–3023.
- (11) Mullen, W.; McGinn, J.; Lean, M. E. J.; MacLean, M. R.; Gardner, P.; Duthie, G. G.; Yokota, T.; Crozier, A. Ellagitannins, flavonoids, and other phenolics in red raspberries and their contribution to antioxidant capacity and vasorelaxation properties. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 5191–5196.
- (12) Grusso, D.; Stewart, D.; McDougall, G. J. Berry polyphenols inhibit α -amylase in vitro: identifying active components in rowanberry and raspberry. *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 2324–2331.
- (13) McDougall, G. J.; Kulkarni, N. N.; Stewart, D. Berry polyphenols inhibit pancreatic lipase activity in vitro. *Food Chem.* **2009**, *115*, 193–199.
- (14) Kähkönen, M. P.; Hopia, A. I.; Heinonen, M. Berry phenolics and their antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 4076–4082.
- (15) Macheix, J. J.; Fleuriet, A.; Billot, J. *Fruit Phenolics*; CRC Press: Boca Raton, FL, 1990.
- (16) Aaby, K.; Mazur, S.; Nes, A.; Skrede, G. Phenolic compounds in strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) fruits: composition in 27 cultivars and changes during ripening. *Food Chem.* **2012**, *132*, 86–97.

- (17) Bakker, J.; Bridle, P.; Bellworthy, S. J. Strawberry juice colour: a study of the quantitative and qualitative pigment composition of juices from 39 genotypes. *J. Sci. Food Agric.* **1994**, *64*, 31–37.
- (18) Hernanz, D.; Recamales, A. F.; Meléndez-Martínez, A. J.; Gonzalez-Miret, M. L.; Heredia, F. J. Assessment of the differences in the phenolic composition of five strawberry cultivars (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) grown in two different soilless systems. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 1846–1852.
- (19) Olsson, M. E.; Ekvall, J.; Gustavsson, K. E.; Nilsson, J.; Pillai, D.; Sjöholm, I.; Svensson, U.; Akesson, B.; Nyman, M. G. L. Antioxidants, low molecular weight carbohydrates, and total antioxidant capacity in strawberries (*Fragaria* × *ananassa*): effects of cultivar, ripening, and storage. *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 2490–2498.
- (20) Wang, S. Y. Antioxidant capacity and phenolic content of berry fruits as affected by genotype, preharvest conditions, maturity, and postharvest handling. In *Berry Fruit: Value-Added Products for Health Promotion (Food Science and Technology)*; Zhao, Y., Ed.; Routledge Chapman and Hall: Germany, 2007; pp 147–186.
- (21) Josuttis, M.; Carlen, C.; Crespo, P.; Nestby, R.; Toldam-Andersen, T. B.; Dietrich, H.; Krüger, E. A Comparison of bioactive compounds of strawberry fruit from Europe affected by genotype and latitude. *J. Berry Res.* **2012**, *2*, 73–95.
- (22) McDougall, G. J.; Martinussen, L.; Junttila, O.; Verrall, S.; Stewart, D. Assessing the influence of genotype and temperature on polyphenol composition in cloudberry (*Rubus chamaemorus* L.) using a novel mass spectrometric method. *J. Agric. Food Chem.* **2011**, *59*, 10860–10868.
- (23) Josuttis, M.; Dietrich, H.; Treutter, D.; Will, F.; Linnemannstöns, L.; Krüger, E. Solar UVB response of bioactives in strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch. L.): a comparison of protected and open-field cultivation. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 12692–12702.
- (24) Giusti, M. M.; Wrolstad, R. E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*; Wrolstad, R. E., Acree, T. E., An, H., Decker, E. A., Penner, M. H., Reid, D. S., Schwartz, S. J., Shoemaker, C. F., Sporns, P., Eds.; Wiley: New York, 2001; p 1.
- (25) Singleton, V. L.; Orthofer, R.; Lamuela-Raventós, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. In *Methods in Enzymology Oxidants and Antioxidants Part A, Vol.*, 299; Lester, P., Ed.; Academic Press: San Diego, CA, 1999; pp 152–178.
- (26) Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol. Med.* **1999**, *26*, 1231–1237.
- (27) Huang, D.; Ou, B.; Hampsch-Woodill, M.; Flanagan, J. A.; Prior, R. L. R. High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 4437–4444.
- (28) Huang, D.; Ou, B.; Prior, R. L. R. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 1841–1856.
- (29) Deighton, N.; Brennan, R.; Finn, C.; Davies, H. V. Antioxidant properties of domesticated and wild *Rubus* species. *J. Sci. Food Agric.* **2000**, *80*, 1307–1313.
- (30) McDougall, G. J.; Martinussen, L.; Stewart, D. Towards fruitful metabolomics: high throughput analyses of polyphenol composition in berries using direct infusion mass spectrometry. *J. Chromatogr., B* **2008**, *871*, 362–369.
- (31) Stewart, D.; McDougall, G. J.; Sungurtas, J.; Verall, S.; Graham, J.; Martinussen, I. Metabolomic approach to identifying bioactive compounds in berries: advances toward fruit nutritional enhancement. *Mol. Nutr. Food Res.* **2007**, *51*, 645–651.
- (32) Gasperotti, M.; Masuero, D.; Vrhovsek, U.; Guella, G.; Mattivi, F. Profiling and accurate quantification of *Rubus* ellagitannins and ellagic acid conjugates using direct UPLC-Q-TOF HDMS and HPLC-DAD analysis. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 4602–4616.
- (33) Mullen, W.; Yokota, T.; Lean, M. E. J.; Crozier, A. Analysis of ellagitannins and conjugates of ellagic acid and quercetin in raspberry fruits by LC/MSn. *Phytochemistry* **2003**, *64*, 617–624.
- (34) Gu, L.; Kelm, M. A.; Hammerstone, J. F.; Beecher, G. R.; Holden, J.; Haytowitz, D. B.; Prior, R. L. R. Screening of foods containing proanthocyanidins and their structural characterization using LC/MS/MS and thiolytic degradation. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 7513–7521.
- (35) Määttä-Riihinen, A.; Kamal-Eldin, A.; Törrönen, A. R. Identification and quantification of phenolic compounds in berries of *Fragaria* and *Rubus* species (family Rosaceae). *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 6178–6187.
- (36) Gu, L.; Kelm, M. A.; Hammerstone, J. F.; Beecher, G. R.; Holden, J.; Haytowitz, D. B.; Prior, R. L. R. Screening of foods containing proanthocyanidins and their structural characterization using LC/MS/MS and thiolytic degradation. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 7513–7521.
- (37) Stringano, E.; Cramer, R.; Hayes, W.; Smith, C.; Gibson, T.; Mueller-Harvey, I. Deciphering the complexity of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) proanthocyanidins by MALDI-TOF mass spectrometry with a judicious choice of isotope patterns and matrices. *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 4147–4153.
- (38) Tulipani, S.; Mezzetti, B.; Capocasa, F.; Bompadre, S.; Beekwilder, J.; de Vos, C. H. R.; Capanoglu, E.; Bovy, A. G.; Battino, M. Antioxidants, phenolic compounds, and nutritional quality of different strawberry genotypes. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 696–704.
- (39) Capocasa, F.; Scalzo, J.; Mezzetti, B.; Battino, M. Combining quality and antioxidant attributes in the strawberry: the role of genotype. *Food Chem.* **2008**, *111*, 872–878.
- (40) Gil, M. I.; Holcroft, D. M.; Kader, A. A. Changes in strawberry anthocyanins and other polyphenols in response to carbon dioxide treatments. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 1662–1667.
- (41) Diamanti, J.; Sguigna, V.; Mezzetti, B.; Faedi, W.; Maltoni, M. L.; Denoyes, B.; Chartier, P.; Petit, A. European small berries genetic resources, GENBERRY: testing a protocol for detecting fruit nutritional quality in EU strawberry germplasm collections. *Acta Hort.* **2012**, *926*, 33–37.
- (42) Davik, J.; Bakken, A. K.; Holte, K.; Blomhoff, R. Effects of genotype and environment on total anti-oxidant capacity and the content of sugars and acids in strawberries (*Fragaria* × *ananassa* Duch.). *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* **2006**, *81*, 1057–1063.
- (43) Josuttis, M.; Dietrich, H.; Patz, C. D.; Krüger, E. Effects of air and soil temperatures on the chemical composition of fruit and agronomic performance in strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.). *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* **2011**, *86*, 415–421.
- (44) Terry, L. A.; Chope, G. A.; Bordonaba, J. G. Effect of water deficit irrigation and inoculation with *Botrytis cinerea* on strawberry (*Fragaria* × *ananassa*) fruit quality. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 10812–10819.
- (45) Wang, S. Y.; Zheng, W. Effect of plant growth temperature on antioxidant capacity in strawberry. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 4977–4982.
- (46) Tulipani, S.; Marzban, G.; Herndl, A.; Laimer, M.; Mezzetti, B.; Battino, M. Influence of environmental and genetic factors on health-related compounds in strawberry. *Food Chem.* **2011**, *124*, 906–913.
- (47) Crespo, P.; Bordonaba, J. G.; Terry, L. A.; Carlen, C. Characterisation of major taste and health-related compounds of four strawberry genotypes grown at different Swiss production sites. *Food Chem.* **2010**, *122*, 16–24.
- (48) Carbone, C.; Preuss, A.; De Vos, R. C. H.; D'Amico, E.; Perrotta, G.; Bovy, A. G.; Martens, S.; Rosati, C. Developmental, genetic and environmental factors affect the expression of flavonoid genes, enzymes and metabolites in strawberry fruits. *Plant, Cell Biol.* **2009**, *32*, 1117–1131.
- (49) Jaakola, L.; Hohtola, A. Effect of latitude on flavonoid biosynthesis in plants. *Plant, Cell Environ.* **2010**, *33*, 1239–1247.
- (50) Remberg, S. F.; Sønsteby, A.; Aaby, K.; Heide, O. M. Influence of postflowering temperature on fruit size and chemical composition of Glen Ample raspberry (*Rubus idaeus* L.). *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 9120–9128.
- (51) Wang, S. Y.; Camp, M. J. Temperatures after bloom affect plant growth and fruit quality of strawberry. *Sci. Hortic.* **2000**, *85*, 183–199.
- (52) Krüger, E.; Josuttis, M.; Nestby, R.; Toldam-Andersen, T. B.; Carlen, C.; Mezzetti, B. Influence of growing conditions at different

latitudes on strawberry growth performance, yield and quality. *J. Berry Res.* **2012**, *2*, 143–157.

(53) Aaby, K.; Skrede, G.; Wrolstad, R. E. Phenolic composition and antioxidant activities in flesh and achenes of strawberries (*Fragaria × ananassa*). *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 4032–4040.

(54) Fait, A.; Hanhineva, K.; Beleggia, R.; Dai, N.; Rogachev, I.; Nikiforova, V. J.; Fernie, A. R.; Aharoni, A. Reconfiguration of the achene and receptacle metabolic networks during strawberry fruit development. *Plant Physiol.* **2008**, *148*, 730–750.

(55) Gross, G. G. Biosynthesis of ellagitannins: old ideas and new solutions. In *Chemistry and Biology of Ellagitannins: An Underestimated Class of Bioactive Plant Polyphenols*; Quideau, S., Ed.; World Scientific Publishing: Singapore, 2009; pp 94–118.

(56) Landete, J. M. Ellagitannins, ellagic acid and their derived metabolites: a review about source, metabolism, functions and health. *Food Res. Int.* **2011**, *44*, 1150–1160.

(57) Vrhovsek, U.; Guella, G.; Gasperotti, M.; Pojer, E.; Zancato, M.; Mattivi, F. Clarifying the identity of the main ellagitannin in the fruit of the strawberry, *Fragaria vesca* and *Fragaria ananassa* Duch. *J. Agric. Food Chem.* **2012**, *60*, 2507–2516.

8

Untersuchungen zum Einfluss von Bodenbedeckungsmaßnahmen auf wertgebende Inhaltsstoffe der Erdbeere

8.1 Einleitung

Erdbeeren werden derzeit sowohl im traditionellen ebenerdigen Anbau direkt im gewachsenen Boden und zum anderen als Dammkultur angebaut [39, 40, 91]. Bei beiden Verfahren kann Polyethylenfolie zur Bodenbedeckung zum Einsatz kommen. In der Regel wird schwarze Mulchfolie eingesetzt, da durch diese Strahlung absorbiert wird, die Bodentemperatur im Vergleich zum konventionellen Anbau ansteigt und die Ernte auf diese Weise verfrüht werden kann [39, 40, 91]. Die Vorteile dieser Methode sind die Hemmung des Unkrautwachstums und somit die Verminderung des Herbizideinsatzes, die Ernteerleichterung und eine damit verbundene verbesserte Pflückgeschwindigkeit, sauberere Früchte, die Prävention von Bodenerosion, eine effizientere Bewässerung und Fertigation und die Steigerung der Fruchtqualität [66, 169, 301, 302]. Dämme können ein- bis vierreihig bepflanzt werden und haben in der Regel eine Höhe von 15 cm bis 25 cm. Der Pflanzabstand zwischen den Einzelreihen beträgt 30 cm bis 35 cm [39, 40, 91]. Während in Nordeuropa dem ebenerdigen Anbau ohne Mulchfolie eine bedeutendere Stellung zukommt, wird in Südeuropa die Dammkultur für die Erdbeerproduktion standardmäßig angewandt. In Deutschland verbreitet sich der Anbau auf Dämmen immer stärker [40]. Ausschlaggebend für die Auswahl der Anbaumethode ist neben der leichten Durchführbarkeit und dem geringen Kostenaufwand vor allem das Bodenfrostisiko im Winter [39, 169]. Das Bodenfrostisiko steigt beim Anbau auf Dämmen an, da diese eine größere Angriffsfläche bieten. Um irreversible Frostschäden zu vermeiden, wird in nördlicheren Regionen deshalb der ebenerdige Anbau bevorzugt. Bisherige Studien zeigten, dass nicht nur die Qualitätsparameter Zucker und Säure, sondern auch bioaktive Inhaltsstoffe wie Vitamin C und Polyphenole durch die beiden Anbauvarianten beeinflusst werden [65, 66]. Dabei spielt die Farbe des Mulchmaterials eine entscheidende Rolle. Anttonen et al. [77] zeigten, dass mit brauner Mulchfolie höhere Anthocycangehalte in Erdbeeren erzielt werden konnten als mit weißer Folie. Dagegen war der Gesamtphenolgehalt und der Gehalt an Ellagsäure in Früchten, die auf weißer Folie angebaut worden waren, höher als von denen, die auf brauner Mulchfolie kultiviert wurden (vgl. hierzu auch Kapitel 2.4.3.6.1). Das Ziel der im Folgenden beschriebenen Studie war es, die Einflüsse von weißer und schwarzer Mulchfolie auf wertgebende Inhaltsstoffe von Erdbeeren direkt zu vergleichen. Zusätzlich wurden dabei der Damm- und ebenerdige Anbau berücksichtigt. Teile der Untersuchung wurden bereits publiziert [158].

8.2 Material & Methoden

8.2.1 Versuchsaufbau

Um den ebenerdigen Anbau mit dem Anbau auf Dämmen unter Verwendung zweier verschiedener Polyethylenfolien zu vergleichen, wurden in den Jahren 2008 und 2009 Versuche an der Sorte 'Elsanta' durchgeführt. Die Pflanzen wurden jeweils im August des Vorjahres als Grünpflanzen gesetzt. Folgende fünf Anbauweisen wurden miteinander verglichen.

- I. Kontrolle: ebenerdig im gewachsenen Boden mit Stroheinlage während der Blütezeit (**„Kontrolle“**)
- II. Ebenerdiger Anbau unter Verwendung von Mulchfolie (70 cm breit):
 - a) mit weißer Polyethylenfolie (BayWa AG, München) bedeckt (**„ebenerdig WF“**)
 - b) mit schwarzer Polyethylenfolie bedeckt (**„ebenerdig SF“**)
- III. Dammanbau (30 cm hoch x 70 cm breit):
 - c) mit weißer Polyethylenfolie (**„Damm WF“**)
 - d) mit schwarzer Polyethylenfolie (**„Damm SF“**)

Im nachfolgenden Text werden diese Anbauweisen mit den Angaben in Klammern genannt. Der Versuch wurde in beiden Jahren mit allen Varianten in dreifacher Wiederholung à 40 bis 50 Pflanzen durchgeführt. Es wurden Erträge, Bodentemperatur und photosynthetisch aktive Strahlung (PAR) sowie die Bodenreflektion in 50 cm Höhe über den unter I. und II. aufgeführten Varianten gemessen. Die Bodenfeuchte wurde zweimal wöchentlich mittels Tensiometer überprüft und der Versuch bei Bedarf bewässert.

8.2.2 Sensorische Beurteilung

Eine sensorische Beurteilung wurde von einem geschulten Panel durchgeführt, das aus mindestens zwölf Teilnehmern pro Termin bestand. Die Früchte der Varianten „Damm WF“, „Damm SF“ und „Kontrolle“ wurden mittels einer Rangordnungsprüfung (1 = beste Qualität, 3 = schlechteste Qualität) und einer deskriptiven Sensorik verglichen. Das Panel sollte bei der Rangordnungsprüfung beurteilen, welche Früchte favorisiert werden und bei der deskriptiven Sensorik die Früchte unter den Aspekten Gesamtqualität, Säure, Zucker, Zucker/Säure-Verhältnis, Typizität, Reife, Fremdartigkeit, Festigkeit und Saftigkeit bewerten.

8.2.3 Chemische Analyse

Die Analyse der Qualitätsparameter Zucker, Säure, Trockenmasse und bioaktive Substanzen wurde so durchgeführt, wie in den Publikationen von Josuttis et al. [163, 166] aus den Jahren 2010 und 2011 beschrieben.

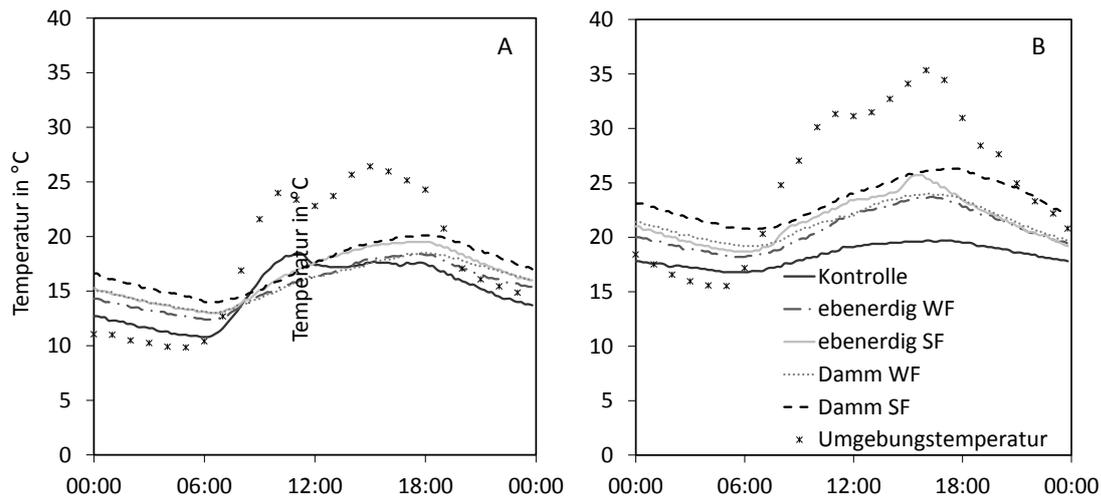
8.2.4 Auswertung

Die Ergebnisse der Kontrollvariante jedes einzelnen Termins wurden tabellarisch dargestellt, um die Schwankungsbreite aufgrund des Probenahmezeitpunkts darzustellen. Die Ergebnisse aller anderen Varianten wurden zur besseren Übersichtlichkeit prozentual im Vergleich zur Kontrolle (Mittelwert jedes Termins = 100 %) dargestellt und statistisch mittels Tukey-Test ($P < 0,05$) ausgewertet. In den Abbildungen und Tabellen sind signifikante Unterschiede mit unterschiedlichen Buchstaben gekennzeichnet.

8.3 Ergebnisse

8.3.1 Umweltfaktoren

Durch das unterschiedliche Reflektionsverhalten von Mulchfolien, die im Erdbeeranbau eingesetzt werden, wird in erster Linie die Bodentemperatur beeinflusst. Wie oben beschrieben wurde beim ebenerdigen Anbau zur Blütezeit Stroh eingelegt um saubere und intakte Früchte zu erwirtschaften. Die Messungen ergaben, dass die Bodentemperatur der „Kontrolle“ stark von der Stroheinlage abhing (Abb. 8.1 A). So wurde bei dieser Variante vor der Stroheinlage der Tagesmaximalwert der Bodentemperatur an einem ausgewählten Tagesbeispiel um etwa 11.00 Uhr beobachtet während er bei den anderen Varianten, bei denen Polyethylenfolie zum Einsatz kam, erst um 17.00 Uhr erreicht wurde. Dieser Effekt hing nicht mit verwendeten Folienfarbe zusammen. Im weiteren Tagesverlauf kühlte sich der Boden bei allen Varianten stetig ab und die Bodentemperatur erreichte am folgenden Tag um etwa 6.00 Uhr einen Minimalwert. Die niedrigste Temperatur wurde für die „Kontrolle“ ermittelt. Nachdem der Boden der „Kontrolle“ mit Stroh bedeckt worden war, ähnelte der Temperaturverlauf dem der vier Folienvarianten. Die Bodentemperatur der „Kontroll“-Variante war über den gesamten Tag hinweg kühler als die der anderen Varianten. Darüber hinaus waren die Temperaturschwankungen geringer (Abb. 8.1 B).

**Abb. 8.1:**

Beispielhafter Tagesverlauf der Bodentemperatur vor (21. April 2009, links) und nach (25. Mai 2009, rechts) Stroheinlage in 5 cm Tiefe.

Über die gesamte Blüh- und Ernteperiode war die Bodentemperatur der Behandlung „Damm SF“ im Mittel am höchsten. Im Vergleich zur Kontrollvariante war sie durchschnittlich um 0,9 °C (2009: 1,4 °C) bzw. nach der Stroheinlage sogar um durchschnittlich 3,8 °C (2009: 3,0 °C) erhöht. Die Bodentemperatur erreichte durch die Variante ebenerdig SF während des Tages ähnliche Werte wie der „Damm SF“. Der Boden des ebenerdigen Anbaus kühlte sich nachts stärker ab als der des Dammes (Abb. 8.1), wodurch sich etwas niedrigere Temperaturabweichungen im Vergleich zur „Kontrolle“ ergaben. Darüber hinaus war vor der Stroheinlage die Temperatur der Varianten mit weißer Folie im Mittel um etwa 0,3 °C niedriger als die Kontrollvariante und nach der Stroheinlage um 1,5 °C bei der Behandlung „ebenerdig WF“ erhöht bzw. um 1,9 °C bei der Variante „Damm WF“. Die Bodentemperatur zwischen den beiden weißen Varianten ($\Delta T = 0,3$ °C) war ähnlicher als zwischen den schwarzen Varianten ($\Delta T = 0,7$ °C), wobei jeweils höhere Temperaturen beim Dammsystem aufgezeichnet wurden.

Tab. 8.1:

Durchschnittliche Bodentemperaturdifferenzen zwischen Kontrollvariante vor und nach Stroheinlage und Bodenbedeckung mit Polyethylenfolie ebenerdig bzw. Dammanbau.

Temperaturdifferenz zur „Kontrolle“	April 2008 (vor Stroheinlage)	Mai 2008 (mit Stroheinlage)	April 2009 (vor Stroheinlage)	Mai 2009 (mit Stroheinlage)
ebenerdig WF	-	-	- 0,3 °C	+ 1,5 °C
ebenerdig SF	-	-	+ 0,8 °C	+ 2,2 °C
Damm WF	- 0,4 °C	+ 1,9 °C	- 0,2 °C	+ 1,9 °C
Damm SF	+ 0,9 °C	+ 3,8 °C	+ 1,4 °C	+ 3,0 °C

Darüber hinaus ist bei der Anwendung von Polyethylenfolie ein verändertes Strahlungsspektrum auf die Pflanze zu erwarten, was durch die Reflektion der Einstrahlung bedingt ist. Im Jahr 2008 war die Reflektion des Stroh höher als die der weißen Folie, gefolgt von der schwarzen Folie. Diese Unterschiede waren im Jahr 2009 weniger deutlich. Eine Verdopplung der Blattfläche im zweiten Versuchsjahr (Tab. 8.1) erklärte diese Beobachtung, weil mit fortschreitender Vegetationsperiode in erster Linie die Reflektion der Blätter gemessen wurde.

Tab. 8.2:
Durchschnittliche Blattfläche pro Pflanze zum Ernteende.*

Jahr	Blattfläche (cm ²)
2008	2259 a
2009	5089 b

* Daten werden als Mittelwert (n = 15) angegeben. Signifikant unterschiedliche Ergebnisse sind pro Spalte mit verschiedenen Buchstaben gekennzeichnet (P < 0,05).

Erkennbar ist dies vor allem am Verlauf der Reflektionsmessung über die Vegetationsperiode; zum Ende der Datenaufnahme sind die Bodenbedeckungen Stroh (Variante „Kontrolle“), weiße Folie (Varianten „ebenerdig WF“ und „Damm WF“) und schwarze Folie (Varianten „ebenerdig SF“ und „Damm SF“) wegen des Zuwachses der Blattfläche in ihrer PAR Reflektion kaum noch voneinander zu unterscheiden (Abb. 8.2). Eine direkte Reflektionsmessung der Folien ohne Pflanzen ergab, dass die weiße Folie bis zu 45 % der einfallenden PAR reflektierte und die schwarze Folie nur 7 %.

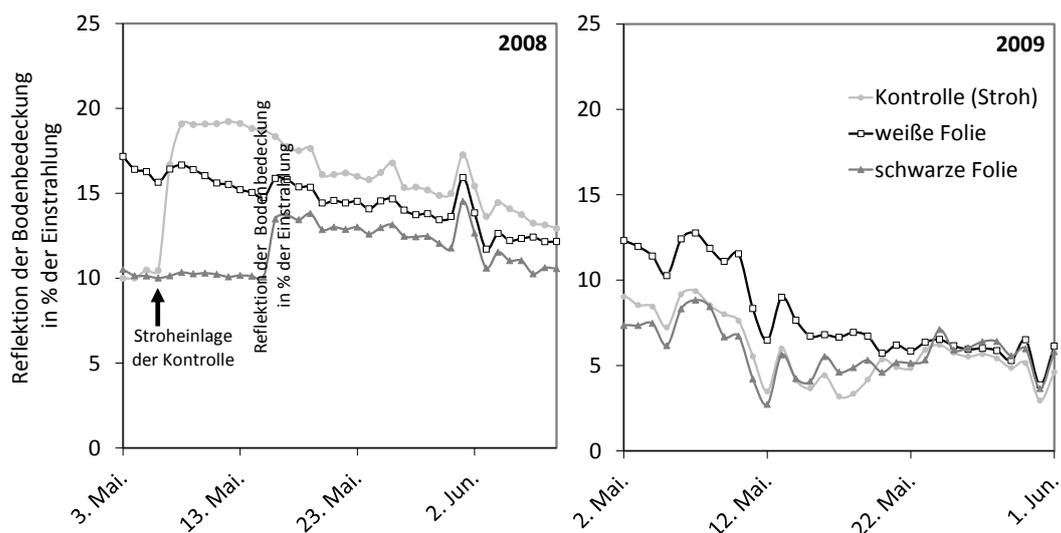


Abb. 8.2:
Prozentuale Reflektion photosynthetisch aktiver Strahlung der eingesetzten Mulchmaterialien im Vergleich zur Einstrahlungsintensität (links 2008, rechts 2009).

Die Unterschiede in der Pflanzenentwicklung in beiden Jahren sind auf die Umgebungstemperaturen zurückzuführen. So hatten die Pflanzen 2009 einen stärkeren Kälteeinfluss im Januar, wohingegen es in der ersten April-Hälfte im Vergleich zu 2008 wesentlich wärmer war (vgl. Abb. 8.3), was ein verstärktes vegetatives Wachstum erklären könnte. Im Jahr 2009 war die Blattfläche bereits Anfang Mai so groß, dass das Einbringen des Strohs im Vergleich zu 2009 keine Erhöhung der Reflektion mehr hervorrief. Die gewählte Messmethode zeichnete lediglich die Reflektion der Blätter auf und nicht die der Bodenbedeckung.

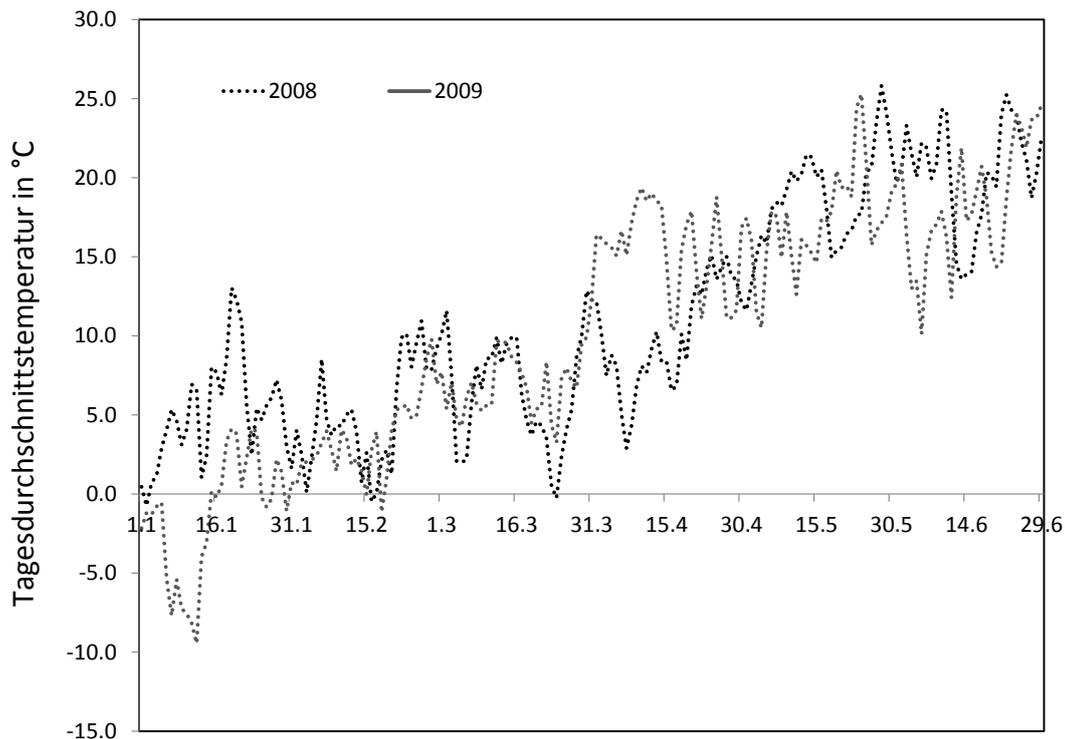


Abb. 8.3:

Tagesdurchschnittstemperatur in Geisenheim von Januar bis Ende Juni 2008 und 2009.

8.3.2 Ertrag und Fruchtgröße

Die Erträge, die mit den Varianten erzielt wurden, unterschieden sich teilweise signifikant voneinander (Tab. 8.3). 2008 wurden im ebenerdigen Anbau mit Mulchfolie die höchsten Erträge erreicht, die sich signifikant von den erzielten Erträgen unter Bedingungen der „Kontrolle“ bzw. des „Damms WF“ unterschieden. Der geringste Ertrag wurde von Pflanzen der Variante „Damm SF“ erzielt, der nur 42,5 % im Vergleich zur „Kontrolle“ ausmachte. Dieses Phänomen wurde im ersten Versuchsjahr durch eine Unterentwicklung der Pflanzen dieser Variante hervorgerufen. Um diesen Effekt im nächsten Versuchsjahr auszuschließen, wurden die Anbauarten so weit möglich randomisiert, so dass der Rand-

reiheneffekt minimiert und die Verteilung des Pflanzmaterials optimiert wurden. 2009 wurde der höchste Ertrag in der „Kontroll“-Variante erzielt, der sich trotz Umstrukturierung des Versuches signifikant von jenem der Variante „Damm SF“ unterschied. Alle anderen Varianten waren hingegen nicht unterscheidbar. Im Hinblick auf die beiden Versuchsjahre wurde 2009 im Schnitt variantenübergreifend ein doppelt so hoher Ertrag erzielt wie 2008. Darüber hinaus kann festgehalten werden, dass das durchschnittliche Fruchtgewicht nicht durch die Anbaumethode beeinflusst wurde. Im Jahresvergleich war das durchschnittliche Fruchtgewicht 2009 signifikant um 10 % erhöht. Der Erntebeginn wurde durch die schwarze Folie verfrüht: Bei zwei bis drei Ernten pro Woche konnte die Variante „Damm SF“ zwei Termine früher und die Variante „ebenerdig SF“ einen Termin eher im Vergleich zu den anderen Varianten geerntet werden.

Tab. 8.3:
Gesamtertrag pro Pflanze, durchschnittliches Fruchtgewicht und Erntebeginn verschiedener Bodenbedeckungsmaßnahmen-Varianten im Jahr 2008 und 2009.*

	2008			2009		
	Ernte- beginn	Ertrag (g/Pflanze)	Durch- schnittliches Fruchtgewicht > 25 mm (g)	Ernte- beginn	Ertrag (g/Pflanze)	Durch- schnittliches Fruchtgewicht > 25 mm (g)
Kontrolle	25.05.	541 ± 5 b	14,9 ± 0,5 a	29.05.	1222 ± 160 a	17,8 ± 1,5 a
ebenerdig WF	25.05.	663 ± 25 a	15,2 ± 0,4 a	29.05.	1140 ± 53 ab	17,2 ± 1,3 a
ebenerdig SF	22.05.	699 ± 32 a	15,8 ± 0,5 a	26.05.	1024 ± 76 ab	17,4 ± 1,7 a
Damm WF	25.05.	461 ± 24 b	15,9 ± 1,8 a	29.05.	982 ± 77 ab	16,8 ± 1,6 a
Damm SF	20.05.	230 ± 52 c	15,7 ± 0,6 a	23.05.	888 ± 32 b	17,2 ± 0,7 a

* Daten werden als Mittelwert (n = 3) ± Standardabweichung angegeben. Signifikant unterschiedliche Ergebnisse sind pro Spalte mit verschiedenen Buchstaben gekennzeichnet (P < 0,05).

8.3.3 Konventionelle Qualitätsparameter

Die Fruchtgröße nimmt bei einmaltragenden Sorten in der Regel im Verlauf der Ernte ab, was durch Variationen der Anteile an primären, sekundären bzw. tertiären Früchten bedingt ist [40, 303]. Beim Variantenvergleich könnte dieser Faktor aufgrund des Verfrühungseffektes von schwarzer Folie eine Rolle spielen. Neben den Qualitätsparametern (Gesamtsäure, Zucker und Trockenmasse) wurde daher das durchschnittliche Fruchtgewicht der Probe bestimmt (Tab. 8.4, Abb. 8.4). Der Vergleich der einzelnen Termine (Tab. 8.4) zeigte für die Früchte der „Kontrolle“ im ersten Versuchsjahr keine Unterschiede und im zweiten Versuchsjahr eine deutliche Fruchtgewichtsabnahme für den zweiten Probenahmetermin. Der Gesamtsäuregehalt der Früchte wies die höchste Konstanz auf. Eine Abweichung war lediglich beim zweiten Probenahmetermin 2008 zu beobachten. Lösliche Trockenmasse und Trockenmasse waren in beiden Versuchsjahren beim zweiten Termin höher als beim ersten.

Tab. 8.4:
Qualitätsparameter der Kontrollvariante an zwei Probenahmeterminen (1. und 2. Erntewoche) im Jahr 2008 und 2009.*

Termin	Jahr	Gesamtsäure (g kg ⁻¹)	lösliche Trockenmasse (°Brix)	Trockenmasse (%)	durchschnittliches Fruchtgewicht der Probe (g)
1	2008	7,8 ± 0,2 a	6,1 ± 0,4 b	7,3 ± 0,4 c	16,2 ± 1,5 b
2	2008	6,5 ± 0,2 b	8,2 ± 0,3 a	9,8 ± 0,5 a	16,5 ± 1,5 b
1	2009	7,7 ± 0,3 a	6,3 ± 0,2 b	8,8 ± 0,1 b	21,4 ± 0,4 a
2	2009	7,3 ± 0,5 ab	7,7 ± 0,6 a	9,3 ± 0,6 ab	14,3 ± 0,6 b

*Die Daten werden als Mittelwert (n = 3) ± Standardabweichung angegeben. Signifikant unterschiedliche Ergebnisse sind pro Spalte mit verschiedenen Buchstaben gekennzeichnet (P < 0,05).

Der Variantenvergleich zeigte (Abb. 8.4), dass durch den Einsatz von weißer Folie („ebenerdig WF“ und „Damm WF“) der Gesamtsäuregehalt erhöht wurde. Dagegen konnte mit der schwarzen Folie die Gehalte an löslicher Trockenmasse (°Brix) gesteigert werden. Die Trockenmasse wurde in Früchten der Variante „Damm SF“ im Vergleich zur „Kontroll“-Variante um 26 % erhöht. Das durchschnittliche Fruchtgewicht der Probe wurde durch die unterschiedlichen Varianten nicht beeinflusst. Es zeigte sich dennoch eine Tendenz zu niedrigeren Fruchtgewichten, wenn die Früchte unter Verwendung von schwarzer Folie angebaut wurden.

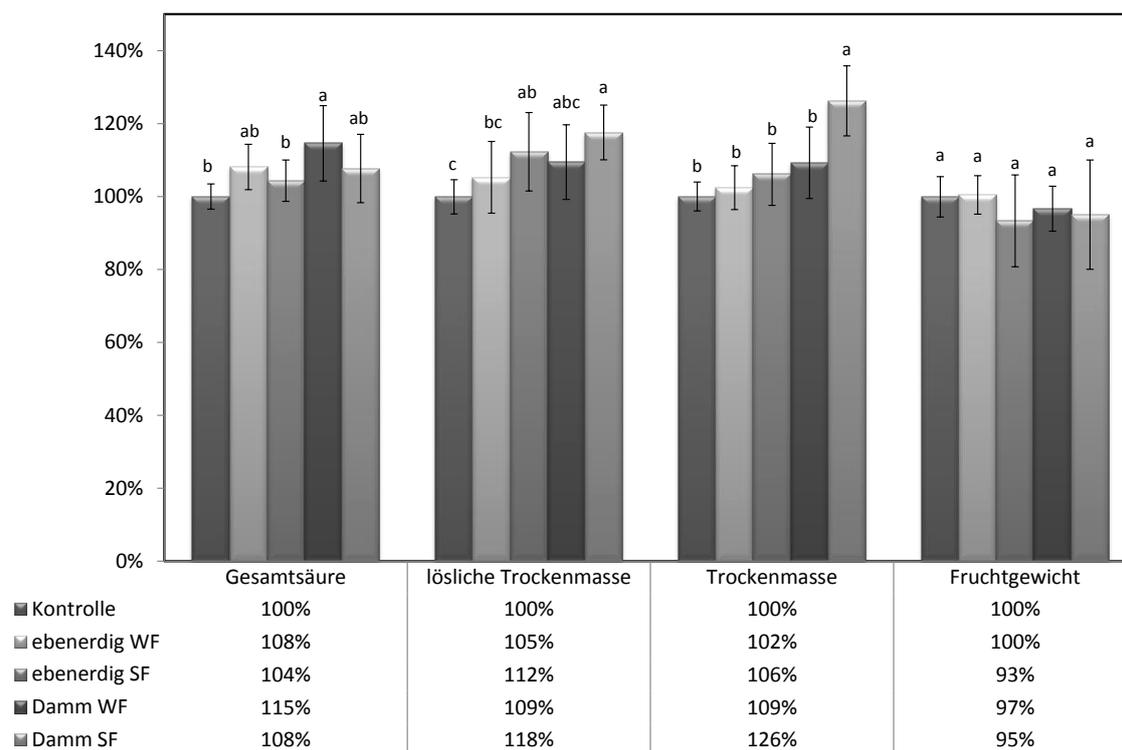


Abb. 8.4:
Vergleich konventioneller Qualitätsparameter verschiedener Bodenbedeckungsmaßnahmen Varianten. Dargestellt als Mittelwert der prozentualen Abweichung der „Kontrolle“ pro Probenahmetermin. Daten werden als Mittelwert (n = 12, „Damm SF“ n = 9) ± Standardabweichung angegeben. Signifikant unterschiedliche Ergebnisse sind mit verschiedenen Buchstaben gekennzeichnet (P < 0,05).

8.3.4 Sensorische Qualität

Die Grundlage für eine wohlschmeckende Frucht ist der Gehalt an Zucker und Säure und das Verhältnis dieser Parameter zueinander [40, 304]. Das Zucker/Säure-Verhältnis variierte zwischen 7,6 und 14,4 und war im Vergleich zur „Kontrolle“ von Früchten der Varianten mit schwarzer Folie am höchsten (Tab. 8.5). Bedingt durch höhere Säuregehalte konnte bei den Früchten der Varianten mit weißer Folie im Vergleich zu den anderen Varianten tendenziell ein niedrigeres Verhältnis beobachtet werden (vgl. Kapitel 8.3.3). Im Vergleich zur „Kontrolle“ zeigten sich jedoch keine signifikanten Unterschiede.

Tab. 8.5:

Zucker/Säure-Verhältnis der Früchte der Bodenbedeckungsmaßnahmen-Varianten nach der Rangfolge im Jahr 2008 und 2009.*

Termin	Jahr	Kontrolle	ebenerdig WF	ebenerdig SF	Damm WF	Damm SF
1	2008	7,8 ± 0,4 ab	7,9 ± 0,4 ab	8,3 ± 0,2 ab	7,6 ± 0,4 b	8,5 ± 0,3 a
2	2008	12,9 ± 0,4 b	12,8 ± 0,4 b	14,4 ± 0,6 a	12,4 ± 0,4 b	-
1	2009	8,3 ± 0,2 b	8,2 ± 0,2 b	9,3 ± 0,6 a	8,0 ± 0,2 b	9,6 ± 0,3 a
2	2009	10,2 ± 0,3 ab	9,4 ± 0,5 b	11,0 ± 0,7 a	9,4 ± 0,5 b	11,2 ± 0,2 a

*Daten werden als Mittelwert (n = 3) ± Standardabweichung angegeben. Signifikant unterschiedliche Ergebnisse sind pro Zeile mit verschiedenen Buchstaben gekennzeichnet (P < 0,05).

Die sensorische Beurteilung beschränkte sich auf die Bewertung von Früchten der „Kontrolle“ und der Variante „Damm WF“ und „Damm SF“ (Tab. 8.6). Die Werte des Zucker/Säure-Verhältnisses spiegelten sich auch in der sensorischen Bewertung der Früchte wider, wobei in einer Rangordnungsprüfung der „Damm SF“ am besten bewertet wurde. Früchte der Kontrollvariante und des „Damm WF“ unterschieden sich nicht voneinander.

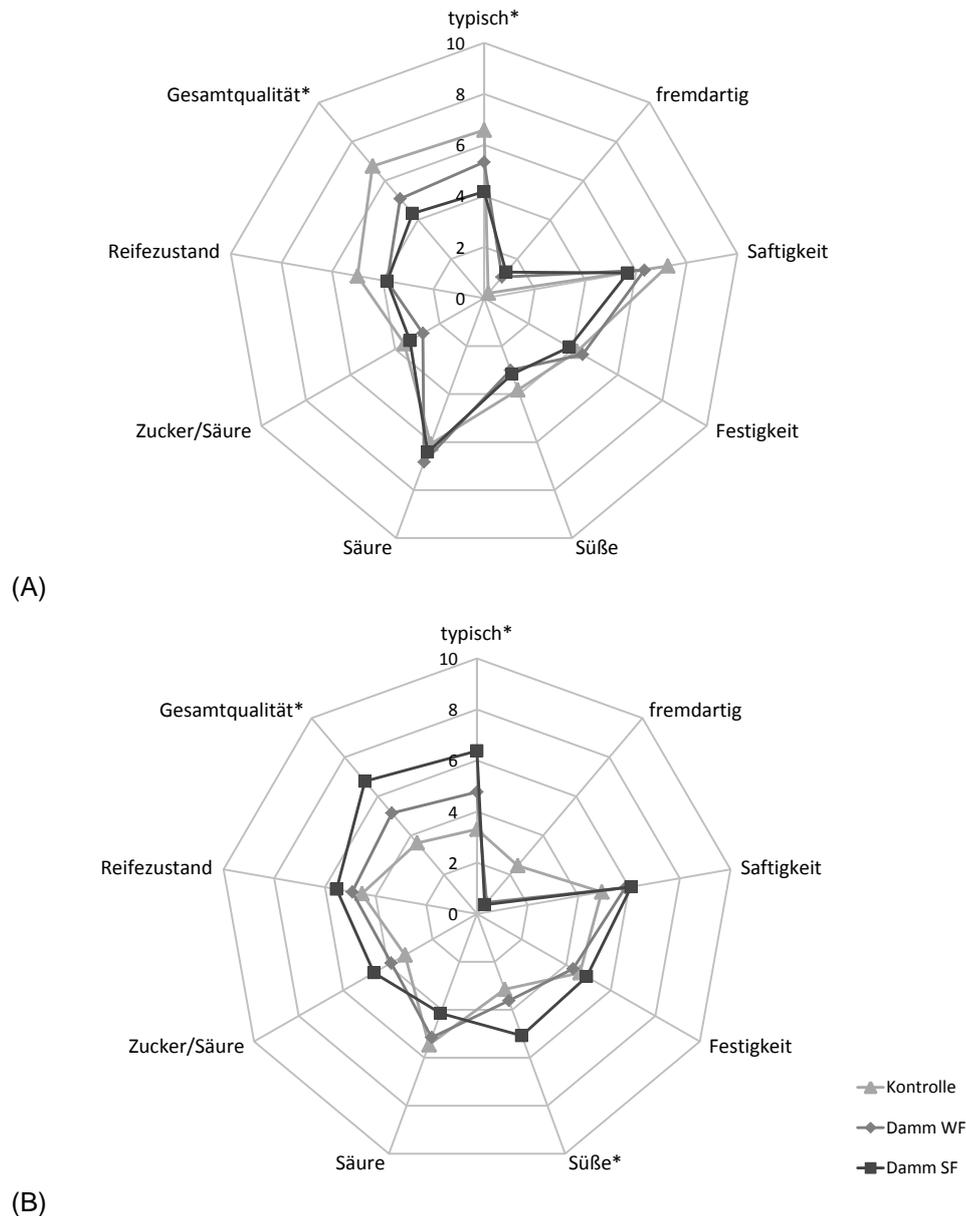
Tab. 8.6:

Sensorische Bewertung der Früchte der Varianten „Kontrolle“, „Damm WF“ und „Damm SF“ nach der Rangfolge im Jahr 2008 und 2009.*

	Rangmittel	Rangsumme
Kontrolle	2,42 b	92
Damm WF	2,11 b	80
Damm SF	1,47 a	56

*Signifikant unterschiedliche Ergebnisse (Anzahl der Prüfer, n = 38) sind pro Spalte mit verschiedenen Buchstaben gekennzeichnet (P < 0,05).

Diese Rangfolge ergab sich aufgrund einer besseren Bewertung der Gesamtqualität und einer stärkeren Typizität der Früchte „Damm SF“ (Abb. 8.5A). Zudem wurden die Früchte im zweiten Versuchsjahr als signifikant süßer beurteilt (Abb. 8.5B). Dieses Ergebnis wurde durch das höhere Zucker/Säure-Verhältnis und den gleichzeitig höheren Zucker-gehalt im Vergleich zur „Kontrolle“ im betreffenden Versuchsjahr bestätigt. In beiden Jahren zeigten die drei sensorisch untersuchten Varianten die gleichen Trends.

**Abb. 8.5:**

Deskriptive Sensorik von Früchten der Varianten „Kontrolle“, „Damm WF“ und „Damm SF“ 2008 (A) und 2009 (B). Signifikant unterschiedliche Ergebnisse wurden mit einem * gekennzeichnet.

8.3.5 Einfluss auf gesundheitlich relevante Inhaltsstoffe

8.3.5.1 Antioxidative Kapazität, Gesamtanthocyane und Vitamin C

Durch die Tests Gesamtphenole, ORAC und TEAC werden antioxidative Inhaltsstoffe in ihrer Gesamtheit erfasst. Die Analysenwerte der vier Termine von Früchten der „Kontroll“-Variante zeigten im Vergleich folgende Schwankungen: Die Werte des Gesamtphenolgehalts lagen 2008 etwa 15 % höher als im Versuchsjahr 2009, wohingegen die ermittelten ORAC Werte 2008 tendenziell niedriger waren. Diese Abweichungen waren jedoch wie im Falle der TEAC Resultate nicht signifikant (Tab. 8.7). Die Gesamtanthocyangehalte lagen bei Termin 2 im ersten Versuchsjahr im Mittel um 50 %

höher als bei allen anderen Probenahmeterminen. Die größte Variation zwischen einzelnen Terminen zeigte der Gehalt an Vitamin C. 2009 wurden bis zu 50 % höhere Werte beobachtet als im Jahr 2008. Weiterhin wies in beiden Versuchsjahren der zweite Termin geringere Vitamin C-Werte auf als der erste Termin.

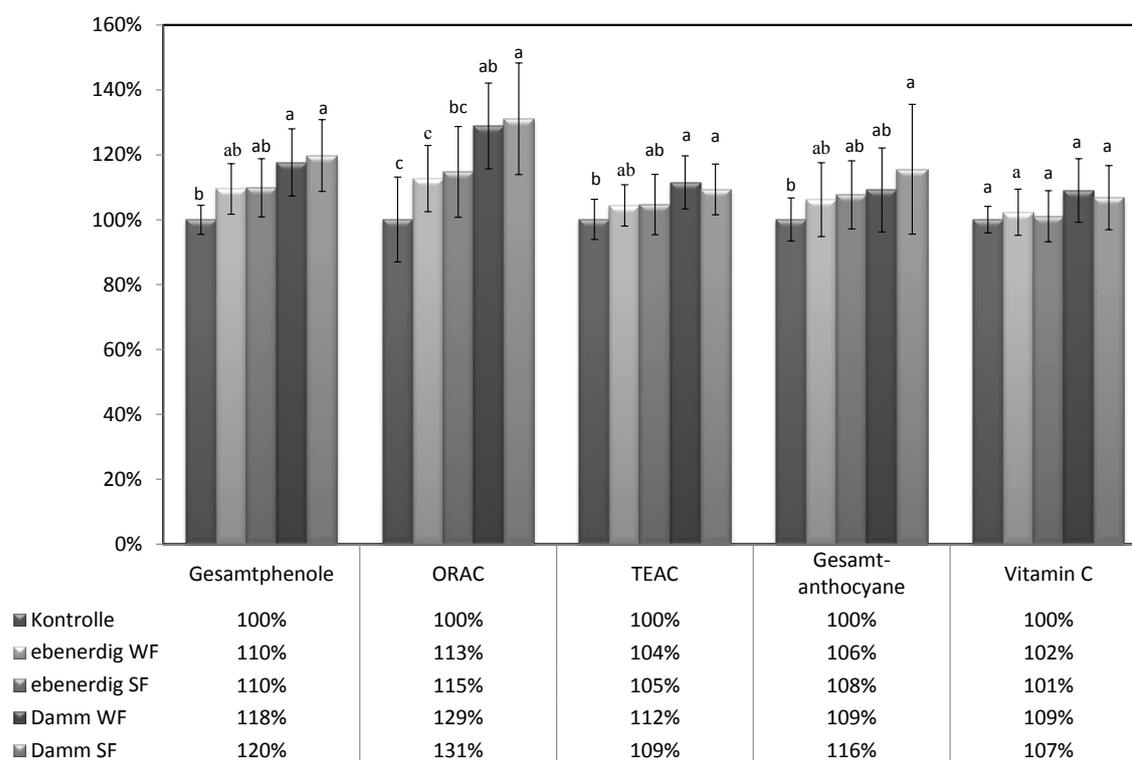
Tab. 8.7:

Antioxidative Kapazität (Gesamtphenole, ORAC, TEAC), Gesamtanthocyane und Vitamin C in Früchten der „Kontrolle“, bezogen auf das Frischgewicht an zwei Probenahmeterminen (1. und 2. Ernteweche) im Jahr 2008 und 2009.*

Termin	Jahr	Gesamtphenole ($\mu\text{g g}^{-1}$)	ORAC ($\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$)	TEAC ($\mu\text{mol Trolox g}^{-1}$)	Gesamtanthocyane ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Vitamin C ($\mu\text{g g}^{-1}$)
1	2008	2294 \pm 193 a	28,0 \pm 3,2 a	26,8 \pm 1,8 a	358 \pm 9 b	753 \pm 32 c
2	2008	2085 \pm 118 ab	26,9 \pm 5,4 a	23,2 \pm 2,6 a	539 \pm 24 a	608 \pm 42 d
1	2009	1891 \pm 41 b	31,8 \pm 2,1 a	24,0 \pm 0,4 a	345 \pm 20 b	980 \pm 24 a
2	2009	1886 \pm 45 b	30,4 \pm 0,3 a	23,6 \pm 1,2 a	389 \pm 54 b	849 \pm 40 b

*Daten werden als Mittelwert ($n = 3$) \pm Standardabweichung angegeben. Signifikant unterschiedliche Ergebnisse sind pro Spalte mit verschiedenen Buchstaben gekennzeichnet ($P < 0,05$).

Bei den Ergebnisse der antioxidativen Kapazität konnte für alle drei Testsysteme eine allgemeine Reihenfolge festgehalten werden: „Kontroll“-Variante < ebenerdig Folie („ebenerdig WF“ und „ebenerdig SF“) < Damm mit Folie („Damm WF“ und „Damm SF“) (Abb. 8.6).

**Abb. 8.6:**

Vergleich der antioxidativen Kapazität, des Gesamtanthocyaningehaltes und des Vitamin C-Gehaltes verschiedener Bodenbedeckungsmaßnahmen-Varianten. Dargestellt als Mittelwert der prozentualen Abweichung der „Kontrolle“ pro Probenahmetermin.

Die Daten werden als Mittelwert ($n = 12$, „Damm SF“ $n = 9$) \pm Standardabweichung angegeben. Signifikant unterschiedliche Ergebnisse sind mit verschiedenen Buchstaben gekennzeichnet ($P < 0,05$).

Die Farbe der eingesetzten Mulchfolie übte dabei keinen Einfluss aus. Die Unterschiede in der antioxidativen Kapazität waren bei den ORAC-Werten zwar stärker ausgeprägt als bei den anderen beiden Testmethoden, doch zeigte dieser Test auch eine höhere Standardabweichung im Vergleich zu den beiden übrigen eingesetzten Tests. Der Gesamtanthocyangehalt unterschied sich nur bei den Früchten „Damm SF“ und der Kontrollvariante signifikant. Der Vitamin C-Gehalt war durch den Einsatz von Mulchfolie und Dammanbau nicht beeinflussbar.

8.3.5.2 Einfluss auf phenolische Verbindungen

8.3.5.2.1 Anthocyane

Die mittels HPLC bestimmten Anthocyane erreichten im Vergleich zu den photometrisch bestimmten Anthocyanen in der Summe etwa 25 % geringere Werte. Dabei waren die Ergebnisse hinsichtlich des Varianteneinflusses vergleichbar (Abb. 8.7). Durch die HPLC-Analyse wurde überdies für Früchte der „Kontrolle“ die höchsten Anthocyangehalte am zweiten Probenahmetermin 2008 sowohl in der Summe der einzelnen Anthocyane, als auch bei den einzeln detektierten Anthocyanen bestimmt (Tab. 8.8). Der Anteil des Hauptanthocyan Pelargonidin-3-*O*-glucosid betrug zwischen 70 % und 77 %, gefolgt von Pelargonidin-3-*O*-malonylglucosid mit 18 % bis 23 % und Cyanidinen mit 3 % bis 6 %.

Tab. 8.8:
Anthocyane in Früchten der Kontrollvariante an zwei Probenahmeterminen (1. und 2. Erntewoche), bezogen auf Frischgewicht im Jahr 2008 und 2009.

Termin	Jahr	CYA 3-GLU ($\mu\text{g g}^{-1}$)	PEL 3-GLU ($\mu\text{g g}^{-1}$)	PEL Derivat ($\mu\text{g g}^{-1}$)	CYA 3-GLU-MAL ($\mu\text{g g}^{-1}$)	PEL 3-GLU-MAL ($\mu\text{g g}^{-1}$)
1	2008	6,9 \pm 0,2 b	196,8 \pm 8,0 b	1,0 \pm 0,1 a	3,3 \pm 0,3 b	46,1 \pm 8,3 b
2	2008	15,2 \pm 0,9 a	281,7 \pm 58,4 a	2,2 \pm 0,1 b	7,4 \pm 0,9 a	92,5 \pm 13,6 a
1	2009	5,4 \pm 0,3 c	189,7 \pm 8,4 b	1,0 \pm 0,2 a	2,8 \pm 0,5 b	52,7 \pm 2,7 b
2	2009	6,1 \pm 0,6 bc	216,4 \pm 32,8 ab	1,1 \pm 0,4 a	4,1 \pm 0,4 b	69,1 \pm 15,0 ab

* Daten werden als Mittelwert ($n = 3$) \pm Standardabweichung angegeben. Signifikant unterschiedliche Ergebnisse sind pro Spalte mit verschiedenen Buchstaben gekennzeichnet ($P < 0,05$). Abkürzungen: Pelargonidin-3-*O*-malonylglucosid (PEL 3-GLU-MAL), Cyanidin-3-*O*-malonylglucosid (CYA 3-GLU-MAL), Pelargonidinderivat (PEL Derivat), Pelargonidin-3-*O*-glucosid (PEL 3-GLU), Cyanidin-3-*O*-glucosid (CYA 3-GLU).

Die Varianten beeinflussten die einzelnen Anthocyangehalte der Früchte, wie im nachfolgenden Text aufgeführt wird (Abb. 8.7): Die Bildung von Pelargonidin-3-*O*-glucosid wurde durch den Einsatz von Mulchfolie tendenziell gesteigert. Signifikant unterschieden sich mit 19 % höheren Gehalten nur Früchte der Variante „Damm SF“ von der „Kontroll“-Variante. Eine vergleichbare Tendenz war beim Pelargonidinderivat zu verzeichnen, dessen Gehalt in Früchten der Variante „Damm SF“ um durchschnittlich 43 % höher lag als in den Kontrollfrüchten. Ferner war für Pelargonidin-3-*O*-malonylglucosid eine signifikante Erhöhung um 26 % durch die Variante „Damm SF“ im Vergleich zu der Kontrollvariante

zu beobachten. Dagegen war der zuvor genannte Trend bei diesem Pelargonidin nicht gegeben, da die Werte der anderen Folienvarianten in der Nähe von denen der Kontrollvariante lagen (Abb. 8.7).

Cyanidin-3-*O*-glucosid und Cyanidin-3-*O*-malonylglucosid wurden durch die Varianten im ähnlichen Ausmaß beeinflusst. Bei beiden Anthocyanen war allerdings eine tendenzielle Abnahme im Falle der Variante „ebenerdig WF“ im Vergleich zur Kontrollvariante zu beobachten. Darüber hinaus unterschied sich die Variante „ebenerdig WF“ für beide Anthocyane mit 29 % (Cyanidin-3-*O*-glucosid) bzw. 21 % (Cyanidin-3-*O*-malonylglucosid) geringeren Gehalten signifikant von Früchten der Variante „ebenerdig SF“. Ebenso enthielten die Früchte der Variante „Damm SF“ höhere Gehalte der beiden genannten Anthocyane als die der Variante „Damm WF“. Weiterhin ist festzuhalten, dass sich die Behandlung „Damm WF“ nicht von der Behandlung „ebenerdig SF“ unterschied. Im Vergleich zur „Kontrolle“ zeigten diese beiden Varianten einen um mehr als 20 % erhöhten Cyanidingehalt. Durch den Einsatz der Dammkultur mit schwarzer Mulchfolie wurde der Gehalt von Cyanidin-3-*O*-glucosid im Durchschnitt um 67 % bzw. der von Cyanidin-3-*O*-malonylglucosid um durchschnittlich 36 % im Vergleich zur „Kontrolle“ erhöht.

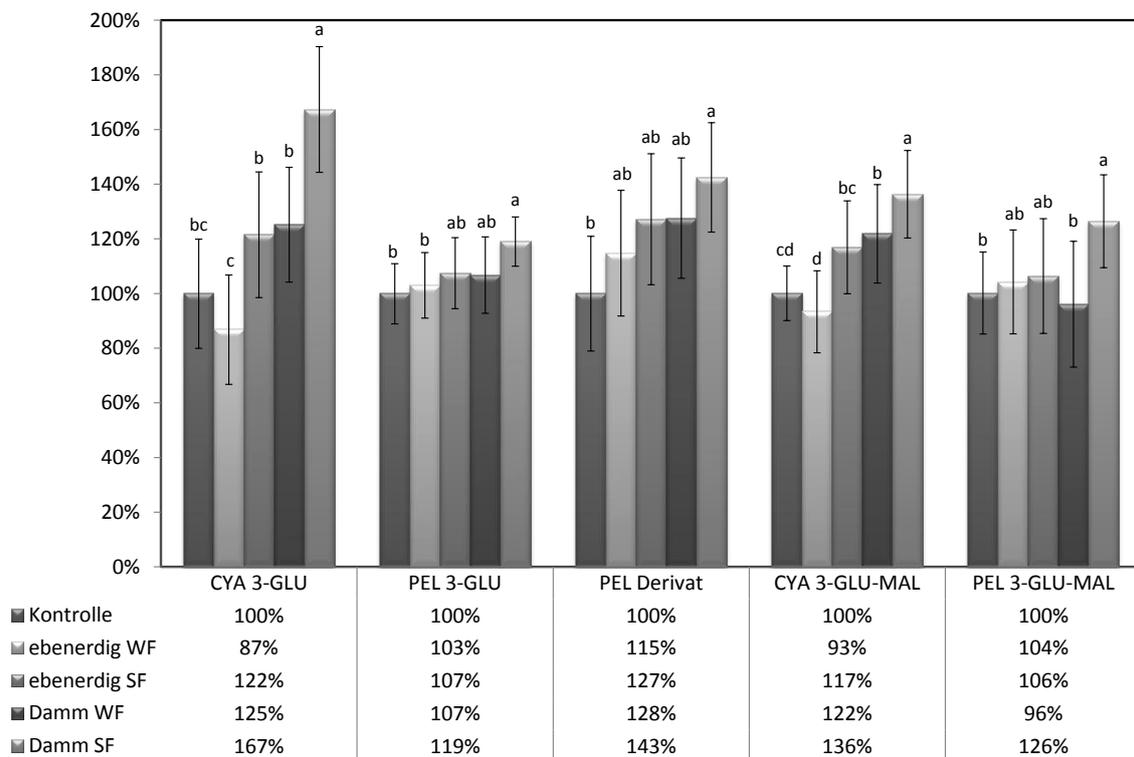


Abb. 8.7:

Vergleich der Anthocyanzusammensetzung in den Früchten der untersuchten Varianten prozentual zur Kontrollvariante während der Saison 2008 und 2009.

Daten werden als Mittelwert ($n = 12$, „Damm SF“ $n = 9$) \pm Standardabweichung angegeben. Signifikant unterschiedliche Ergebnisse sind mit verschiedenen Buchstaben gekennzeichnet ($P < 0,05$). Abkürzungen: Cyanidin-3-*O*-glucosid (CYA 3-GLU), Pelargonidin-3-*O*-glucosid (PEL 3-GLU), Pelargonidinderivat (PEL Derivat), Cyanidin-3-*O*-malonylglucosid (CYA 3-GLU-MAL), Pelargonidin-3-*O*-malonylglucosid (PEL 3-GLU-MAL).

8.3.5.2.2 Farblose Phenole

Die einzeln analysierten Gehalte farbloser Phenole zeigten in den Früchten der Kontrollvariante 1,1-fache bis 1,8-fache Schwankungen zwischen den einzelnen Probenahmeterminen (Tab. 8.9). Dabei wiesen die Gehalte an Proanthocyanidinen und Kämpferol-3-*O*-malonylglucosid eine höhere Stabilität auf als die übrigen Substanzen. Ellagsäure, bestimmt nach der Hydrolyse der Ellagtannine, wies in beiden Jahren höhere Gehalte beim zweiten Termin auf, während die Werte für *p*-Cumaroyl-Glucose im Versuchsjahr 2009 höher waren als 2008. Die Ergebnisse für Quercetin-3-*O*-glucuronid und Kämpferol-3-*O*-glucosid waren hingegen 2008 im Mittel höher als 2009.

Tab. 8.9:
Farblose Phenole in Früchten der „Kontrolle“ an zwei Probenahmeterminen (1. und 2. Erntewoche), bezogen auf das Frischgewicht im Jahr 2008 und 2009.

Termin	Jahr	PAC ($\mu\text{g g}^{-1}$)	EA nach Hydrolyse ($\mu\text{g g}^{-1}$)	EA Derivat ($\mu\text{g g}^{-1}$)	<i>p</i> -CUM GLU ($\mu\text{g g}^{-1}$)	QUER-3-GLC ($\mu\text{g g}^{-1}$)	KAE-3- GLU ($\mu\text{g g}^{-1}$)	KAE-3- GLU-MAL ($\mu\text{g g}^{-1}$)
1	2008	290 ± 7 a	389 ± 17 b	14,8 ± 3,2 a	14,2 ± 2,3 b	29,5 ± 2,0 a	6,4 ± 0,5 b	6,2 ± 1,1 a
2	2008	254 ± 27 a	470 ± 12 a	12,9 ± 3,2 a	16,5 ± 3,1 b	33,7 ± 1,9 a	9,0 ± 0,7 a	8,2 ± 1,8 a
1	2009	274 ± 5 a	351 ± 21 b	9,2 ± 0,6 a	23,2 ± 0,7 a	24,6 ± 0,7 b	5,1 ± 0,2 b	6,0 ± 0,7 a
2	2009	280 ± 17 a	407 ± 40 ab	11,3 ± 0,6 a	18,0 ± 1,8 ab	24,8 ± 2,1 b	5,7 ± 0,5 b	6,3 ± 1,3 a

*Daten werden als Mittelwert ($n = 3$) ± Standardabweichung angegeben. Signifikant unterschiedliche Ergebnisse sind pro Spalte mit verschiedenen Buchstaben gekennzeichnet ($P < 0,05$). Abkürzungen: Proanthocyanidine (PAC), Ellagsäure (EA), *p*-Cumaroyl-Glucose (*p*-CUM GLU), Quercetin-3-*O*-glucuronid (QUER 3-GLU), Kämpferol-3-*O*-malonylglucosid (KAE 3-GLU-MAL), Kämpferol-3-*O*-glucosid einschließlich Kämpferol-3-*O*-glucuronid (KAE 3-GLU).

Die Gehalte an PAC konnten trotz der konstanten Gehalte an den einzelnen Terminen (Tab. 8.9) durch die Anbaumethode beeinflusst werden (Abb. 8.8). So zeigten sich signifikante Unterschiede von durchschnittlich 14 % zwischen den Früchten der „Kontroll“-Variante und der Variante „Damm WF“. Dagegen wurden die ebenso im Gehalt konstante Substanz Kämpferol-3-*O*-malonylglucosid und das Ellagsäurederivat durch die Anbaumethode nicht beeinflusst (Abb. 8.8). Die Ellagtannine zeigten bis auf die Variante „ebenerdig WF“ einen signifikant höheren Gehalt von etwa 25 % im Vergleich zu Früchten der Kontrollvariante. Ähnlich wie das Anthocyan Pelargonidin-3-*O*-glucosid wurde auch die *p*-Cumaroyl-Glucose durch die Behandlungen beeinflusst (vgl. Kapitel 8.3.5.2.1, Abb. 8.7). Dabei enthielten die Früchte „Damm SF“ 16 % höhere Gehalte an *p*-Cumaroyl-Glucose als die „Kontrolle“. Signifikante Unterschiede waren auch zwischen der Variante „ebenerdig WF“ und „Damm SF“ zu beobachten. Im Vergleich war der Effekt des Einsatzes der Mulchfolie von den verschiedenen Varianten auf Quercetine und Kämpferole ähnlich zu dem auf die Cyanidine (vgl. Kapitel 8.3.5.2.1, Abb. 8.7). Die Variante „ebenerdig WF“ beeinflusste die Gehalte der genannten Flavonole im Vergleich zur Kontrolle tendenziell negativ. Eine Steigerung wurde durch die Varianten „ebenerdig SF“ hervorgerufen,

gefolgt von „Damm WF“ und „Damm SF“. Signifikante Unterschiede im Quercetin-3-*O*-glucuronid-Gehalt wurden zwischen „Damm SF“ und allen Varianten des ebenerdigen Anbaus („Kontrolle“, „ebenerdig WF“ und „ebenerdig SF“) sowie zwischen „ebenerdig WF“ und „Damm WF“ festgestellt. Die Unterschiede im Kämpferol-3-*O*-glucosid waren hingegen nur zwischen „Damm SF“ und „Kontroll“-Variante bzw. „ebenerdig WF“ signifikant.

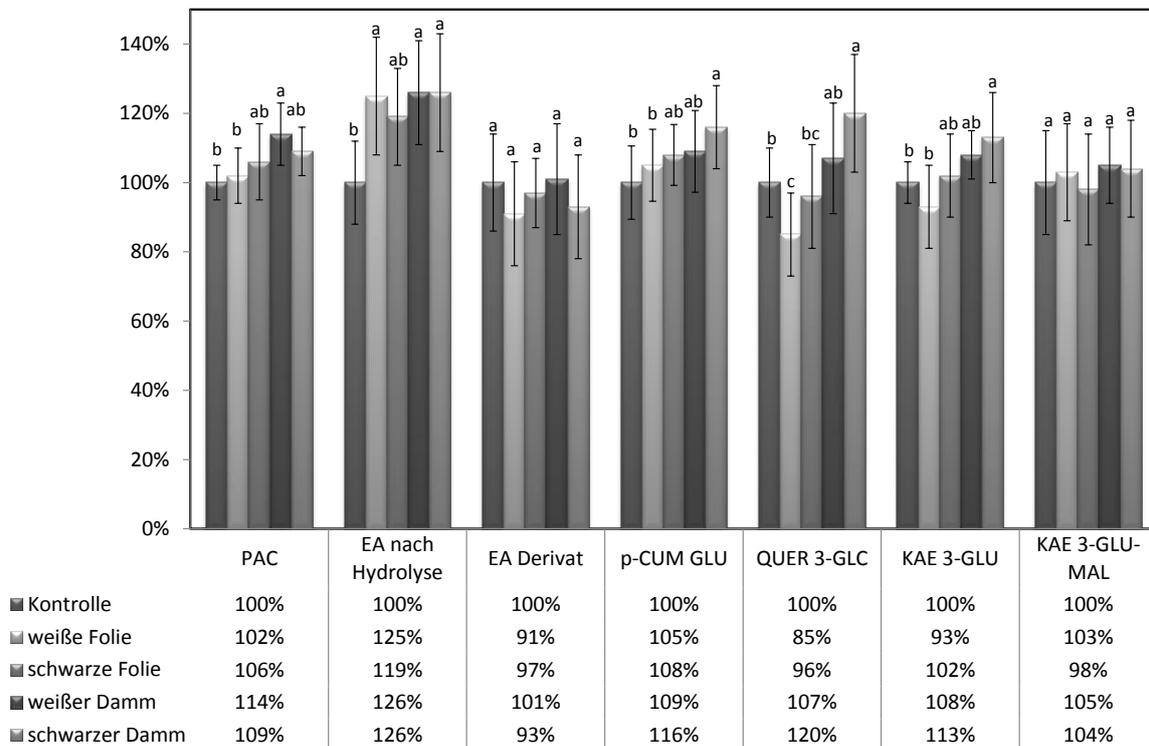


Abb. 8.8:

Vergleich der Zusammensetzung von farblosen Phenolen in den Früchten der untersuchten Varianten prozentual zur Kontrollvariante während der Saison 2008 und 2009.

Daten werden als Mittelwert ($n = 12$, „Damm SF“ $n = 9$) \pm Standardabweichung angegeben. Signifikant unterschiedliche Ergebnisse sind mit verschiedenen Buchstaben gekennzeichnet ($P < 0,05$). Abkürzungen: Proanthocyanidine (PAC), Ellagsäure (EA), *p*-Cumaroyl-Glucose (*p*-CUM GLU), Quercetin-3-*O*-glucuronid (QUER 3-GLC), Kämpferol-3-*O*-malonylglucosid (KAE 3-GLU-MAL), Kämpferol-3-*O*-glucosid einschließlich Kämpferol-3-*O*-glucuronid (KAE 3-GLU).

8.4 Diskussion

Die Versuche zeigten, dass durch den Einsatz von Mulchfolie und den Anbau auf Dämmen viele sekundäre Inhaltsstoffe verstärkt gebildet wurden. Beim alleinigen, ebenerdigen Einsatz von Mulchfolie war diesbezüglich zwar immer eine Tendenz zu beobachten, doch waren die Unterschiede im Vergleich zur „Kontrolle“ nur z. T. signifikant. Das Verhältnis zwischen dem ebenerdigen Einsatz von Mulchfolie und ihrem Einsatz auf dem Damm ist ähnlich einzuordnen. Als zentrales Ergebnis stiegen die bioaktiven Inhaltsstoffe in der folgenden Reihenfolge auf das Frischgewicht bezogen wie folgt an:

Kontrollvariante \leq ebenerdige Folie \leq Damm mit Folie

Der Effekt der Mulchfarbe und eine damit verbundene Reflektion bzw. Veränderung der Bodentemperatur war weniger stark ausgeprägt. So zeigten sich zwischen den eingesetzten Folienfarben signifikante Unterschiede nur bei den Cyanidinen. Früchte wiesen höhere Gehalte dieses Anthocyans bei der Verwendung von schwarzer Mulchfolie auf. Eine gleiche Tendenz konnte auch für Pelargonidine, Quercetine und Kämpferole beobachtet werden, so dass für diese Parameter im Allgemeinen folgende Reihenfolge in den Früchten gegeben war:

weiße Folie \leq schwarze Folie

In früheren Studien ergab ein Vergleich von Erdbeerfrüchten ('Korona'), die auf Dämmen mit brauner und weißer Mulchfolie erzeugt wurden, keine Unterschiede in der antioxidativen Kapazität zwischen diesen beiden Varianten [77]. Bei der braunen Variante konnte ein erhöhter Anthocyangehalt (+10 %) beobachtet werden. Ellagsäure (+8 %) und Gesamtphenole (+6 %) waren hingegen bei Früchten der weißen Variante leicht erhöht. Für Unterschiede in dieser Größenordnung (± 10 %) konnten im Rahmen des durchgeführten Versuchs keine signifikanten Unterschiede erfasst werden. Eine tendenziell positive Wirkung auf den Gehalt an Anthocyanen durch dunkle Mulchfolie wurde jedoch bestätigt. Atkinson et al. [87] zeigte beim Vergleich verschiedener Folientypen an den Sorten 'Elsanta' und 'Flamenco' einen positiven, aber sortenabhängigen Einfluss von hochreflektierender Folie auf die Ellagsäuregehalte der Früchte.

Die hier aufgeführte Reihenfolge der Anbauvarianten und prozentuale Steigerung einzelner bioaktiver Fruchthaltstoffe bestätigt weitestgehend die Untersuchungen von Wang et al. zum Vergleich des Einflusses des ebenerdigen Anbaus mit und ohne schwarze Mulchfolie (Sorte 'Chandler' und 'Allstar') und zum Vergleich ebenerdiger Anbau mit dem Dammanbau unter Verwendung von schwarzer Mulchfolie an vierzehn verschiedenen Sorten [66] (vgl. Kapitel 2.4.3.6.1). So zeigte sich bei der jüngeren Studie von Wang et al. [65], dass durch den Einsatz von schwarzer Mulchfolie die Anthocyane um 20 % erhöht werden können (Erhöhung nach eigener Untersuchung je nach Anthocyan zwischen 6 % und 27 % bzw. bei Gesamtanthocyanen um 8 %, vgl. Abb. 8.6 und Abb. 8.7) und bei den farblosen Phenolen um etwa 5 % was auch der mittleren Steigerung im Rahmen der vorliegenden Untersuchung entspricht, die je nach phenolischer Verbindung zwischen -4 % und +19 % lagen (vgl. Abb. 8.8). Durch den Anbau auf Dämmen mit schwarzer Folie konnten folgende Erhöhungen gegenüber dem konventionellen ebenerdigen Anbau festgestellt werden [66]: Die Anthocyane waren im Vergleich zur vorliegenden Arbeit (je nach Anthocyan Erhöhung um +19 % bis +67 %) in einem ähnlichen Ausmaß um 22 % erhöht. Die farblosen Phenole wurden in der betreffenden Studie im Vergleich zur Kontrollvariante mit

durchschnittlich 20 % stärker erhöht als bei der eigenen Untersuchung mit im Mittel 13 % (je nach phenolischer Verbindung um -7% bis $+26\%$). Vor allem *p*-Cumaroyl-Glucose und Quercetine wurden in beiden Studien durch den Damm mit schwarzer Folie wesentlich beeinflusst, während der Effekt auf Kämpferole geringfügiger ausfiel.

Eine Steigerung des Vitamin C-Gehaltes um etwa 10 % wie in der Studie von Wang et al. [66] konnte durch die Versuche im Rahmen dieser Arbeit nicht belegt werden. Die hier aufgeführte Beobachtung (vgl. 8.3.5.1) wurde durch die Studie von Moor et al. [150] bestätigt, in der vereinzelt signifikante Effekte beobachtet wurden. Im Mittel wurde durch den Einsatz von Mulchfolie kein signifikanter Effekt auf den Vitamin C-Gehalt der Früchte beobachtet. Dies steht auch im Einklang mit früheren Studien, in denen ebenfalls kein eindeutiger Trend beobachtet wurde [87, 150, 305]. Die Beobachtung von Wang et al. [66] beruht zwar auf einer hohen Anzahl an Genotypen, war aber nur auf ein Versuchsjahr beschränkt. Beim Einsatz von schwarzer Mulchfolie stellten Moor et al. [150] weiterhin eine Erhöhung des Anthocyangehaltes von Erdbeeren fest und bestätigten dadurch die hier vorliegenden Ergebnisse. Auch Fan et al. [169] untersuchten den Einfluss von Mulchfolie im ebenerdigen Anbau (ohne Angabe der Mulchfarbe) im Vergleich zum konventionellen, ebenerdigen Anbau und konnten, wie in der vorliegenden Studie, nur geringfügige Einflüsse auf sekundäre Fruchtinhaltsstoffe detektieren.

Bei der Beurteilung der vorliegenden Daten ist jedoch zu beachten, dass die Trockenmasse in den Früchten der Variante „Damm SF“ gegenüber der „Kontrolle“ um durchschnittlich 26 % erhöht war. Bezogen auf die Trockensubstanz dürfte daher kein Einfluss auf die bioaktiven Substanzen zu messen sein. Da die Fruchtgröße aller untersuchten Varianten allerdings ähnlich ist und die Gesamtsäuregehalte sich im Vergleich zur „Kontrolle“ nicht unterscheiden, ist nicht von einem Verdünnungseffekt auszugehen.

Bei allen genannten vorangegangenen Studien blieben Bodentemperaturdaten, Einstrahlung und die konventionellen Qualitätsparameter wie Ertrag, Fruchtgröße oder Zucker- und Säuregehalt der Früchte weitestgehend unberücksichtigt und sollten daher im Rahmen dieser Arbeit erfasst werden. Allein in der Studie von Atkinson et al. [87] wurden alle Parameter ausführlich betrachtet. Dort wurden die Pflanzen allerdings in Säcken kultiviert, so dass die Daten nicht direkt mit denen der vorliegenden Untersuchung vergleichbar sind. Atkinson et al. [87] stellten die Temperaturen von verschiedenen Folienvarianten einander gegenüber und zeigten, dass die Unterschiede der Tagesmaximumtemperatur direkt unter und über der Folie am stärksten sind. Die Bodentemperatur, in 5 cm Tiefe gemessen, zeigte eine geringere Differenz. Die Abweichungen nahmen während der Saison ab, wobei sich die Tagesmaximumwerte am stärksten im Juni und am wenigsten im No-

vember voneinander unterschieden. Dies kann neben sinkenden Temperaturen durch ein Ansteigen der Blattfläche begründet werden. Vor allem das Wachstum der Pflanzen und die damit verbundene Vergrößerung der Blattfläche spielt, wie beschrieben, auch in der vorliegenden Untersuchung eine wesentliche Rolle. Durch Reflektionsmessungen der PAR-Strahlung (vgl. Abb. 8.2) konnte gezeigt werden, dass sich mit fortschreitender Saison die Reflektion zum einen verringerte und zum anderen die Differenzen zwischen den Varianten kleiner wurden. Dies wurde auch durch die durchgeführten Reflektionsmessungen von Atkinson et al. bestätigt [87]. Der Einsatz von reflektierenden Folien ist aus diesem Grund im Gewächshaus vermutlich effektiver, in dem zum einen Lichtmangel herrscht und zum anderen die Blattfläche der Pflanzen im Allgemeinen geringer ist (vgl. Ergebnisse der Blattflächenmessungen in Kapitel 4 und Kapitel 8.3.1). Zusätzlich kann die Folie nicht nur zur Kultivierung der Pflanzen in Säcken verwendet werden, sondern beispielsweise auch auf dem gesamten Boden ausgelegt werden. In der vorliegenden Arbeit sind die größeren Unterschiede zwischen Kontroll- und Dammvariante im Vergleich zum alleinigen, ebenerdigen Einsatz von Mulchfolie ebenfalls durch das Pflanzenwachstum erklärbar. Der Bodenbereich eines Dammes bietet eine größere Oberfläche als der ebenerdige Anbau mit Mulchfolie, wodurch die seitlichen Bereiche eine Aufwärmung der Bodentemperatur bis zum Ende der Saison erfahren. Interessant wäre es deshalb, Kenntnisse über Temperaturen in tieferen Bodenschichten als 5 cm und damit im Hauptwurzelraum der Erdbeere zu erlangen (vgl. hierzu auch Kapitel 4). Dies wäre vor allem wegen der Sonderstellung der „Kontroll“-Variante interessant, d. h. es müsste hierbei geprüft werden, wie sich die Bodentemperatur vor und nach der Stroheinlage verändert.

Im hier dargestellten Versuch wies der Anbau auf die Variante „Damm SF“ zwar Ertragsnachteile gegenüber der „Kontrolle“ auf, doch wurde die Fruchtgröße durch die Anbauvarianten nicht beeinflusst. Diese Beobachtung wurde für ‘Elsanta’ durch frühere Versuche von Eis et al. [239] bestätigt, während bei anderen Sorten sogar ein positiver Einfluss auf den Ertrag beobachtet wurde. Weitere Studien an der Sorte ‘Elsanta’ wie die von Kriehoff et al. [306] hingegen stellten fest, dass eine zweireihige Durchführung des Dammanbaus keine Ertragsnachteile nach zieht. Zudem konnte kein Effekt der Folienfarbe auf den Gesamtertrag beobachtet werden, wohl aber der Nachteil, dass die Fruchtgröße - wenn auch geringfügig - bei der Verwendung von weißer Mulchfolie abnahm [306]. Im Gegensatz hierzu zeigten Neuweiler & Husistein [307] in einem Vergleich von weißem und schwarzem Damm, dass die der Verwendung von weißer Mulchfolie einen geringeren Ertrag verursacht, aber keine Nachteile für das durchschnittliche Fruchtgewicht nach sich zieht. Die unterschiedlichen, vorgestellten Forschungsergebnisse zeigen, dass eine eindeu-

tige Aussage zu Vor- und Nachteilen des Dammanbaus hinsichtlich der Ertragsparameter nicht möglich ist. Vielmehr hängt der Anwendungserfolg zusätzlich von den Standortbedingungen und dem Anbaujahr ab.

Als eindeutiges Ergebnis kann die Steigerung der inneren Standardfruchtqualität durch den Einsatz von Dämmen mit schwarzer Mulchfolie festgehalten werden. So enthielten die Früchte des schwarzen Dammes eine höhere Trockenmasse und höhere Zuckergehalte (°Brix) und wiesen damit ein verbessertes Zucker/Säure-Verhältnis [40] auf als die anderen Varianten. Dies spiegelte sich in beiden Versuchsjahren in einer höheren Beliebtheit bei der sensorischen Bewertung wider, da die Gesamtqualität und Typizität der Früchte besser beurteilt wurde als für die Früchte der „Kontrolle“ bzw. des weißen Dammes. Aromaanalysen wären in diesem Zusammenhang interessant, um das Ergebnis zu spezifizieren.

Obwohl durch den Erntetermin bedingte saisonale Unterschiede auftraten, ließen sich in Relation zu der Kontrollvariante der Gehalt an sekundären Inhaltsstoffen und den oben genannten konventionellen Qualitätsparametern der Früchte prinzipiell steigern, wenn Dämme und Mulchfolie zur Bodenbedeckung verwendet wurden. Als Gesamtfazit kann der Anbau auf Dämmen durchaus empfohlen werden. Allerdings sollten die Vorteile der Qualitätsparameter gegen die Kosten und Umweltfaktoren (z. B. Einsparung von Ressourcen wie Wasser oder Herbiziden, dafür aber eine erhöhte Aufkommen von Folienabfall [302]), genau abgewogen werden.

9

Solar UVB response of bioactives in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch. L.): A comparison of protected and open- field cultivation

Original-Publikation:

Dieses Kapitel erschien im
Journal of Agricultural and Food Chemistry (2010), 58
S. 12692–12702
von Melanie Josuttis, Helmut Dietrich, Dieter Treutter, Frank Will,
Ludger Linnemannstöns und Erika Krüger

Reprinted with permission, Copyright 2010, American Chemical Society

Eigene Leistung:

Planung der Versuche im zweiten Versuchsjahr, Hauptverantwortlichkeit der Versuchsbetreuung, chemische Analyse und
Datenauswertung, schriftliche Abfassung der Publikation.

Solar UVB Response of Bioactives in Strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch. L.): A Comparison of Protected and Open-Field Cultivation

MELANIE JOSUTTIS,^{*,†,‡} HELMUT DIETRICH,[§] DIETER TREUTTER,^{||} FRANK WILL,[§]
LUDGER LINNEMANNSTÖNS,[⊥] AND ERIKA KRÜGER[‡]

[†]Hochschule RheinMain—University of Applied Sciences, 65366 Geisenheim, Germany,
[§]Department of Wine Analysis and Beverage Research, Geisenheim Research Center, 65366 Geisenheim,
Germany, ^{||}Institute of Fruit Science, Technische Universität München, Weihenstephan, 85350 Freising,
Germany, [⊥]Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen, Gartenbauzentrum Straelen/Köln-Auweiler,
50765 Köln-Auweiler, Germany, and [‡]Department of Pomology, Geisenheim Research Center,
65366 Geisenheim, Germany

Strawberries (*Fragaria* × *ananassa* Duch. cvs. Everest, Elsanta) were grown in a tunnel covered with two films, which were distinguished in their ultraviolet transparency, as well as under open-field conditions. One applied film was not transparent for UVB radiation, and the second film transmitted 70% of UVB radiation. During the present study, the nutritional value and quality parameters of the fruits were evaluated. Strawberries were UV-unresponsive in view of the content of ascorbic acid and sum parameters like total anthocyanins and antioxidant capacity measured with TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity), ORAC (oxygen radical absorbance capacity) and total phenols. These parameters were mainly affected by sampling date and cultivar. However, HPLC analysis showed that individual phenolics were affected in the absence of UV radiation. The content of the anthocyanin cyanidin 3-glucoside and the flavonols quercetin 3-glucuronide and kaempferol 3-glucoside was decreased in the fruits grown under UV blocking film compared to open-field grown strawberries. By means of the UV transparent film the content of the mentioned flavonoids could be enhanced up to similar amounts like in open-field grown strawberries. All other phenolics were not consistently affected by UV radiation. This result was independent of cultivar.

KEYWORDS: Strawberries; antioxidant; cultivation; anthocyanins; flavonoids; ascorbic acid; TEAC; ORAC; UV radiation; total phenols

INTRODUCTION

During the past decade health-promoting components of plant products have received increasing attention. Particularly berry fruits are assumed to play an essential role in the prevention of cardiovascular diseases or cancer (1, 2). In strawberries, phenolic compounds and ascorbic acid are main contributors to the antioxidant capacity of the fruits and their nutritional value (3). More than 40 phenolic compounds including anthocyanins, proanthocyanidins, ellagitannins, phenolic acids or flavonols have been identified in these fruits until now (4). However, cultivars differ in their phenolic composition (5, 6). In addition, environmental effects like temperature, altitude, salt stress or deficit irrigation influence the formation of strawberry bioactives (7–10). Several studies were directed to the effect of cultural systems e.g. mulch color, high beds or planting date, which may interact with the synthesis of phytochemicals in strawberry (11–13).

Nowadays, the use of polyethylene tunnels for out-of-season production in Europe is common to produce strawberries (14). Additionally, this method offers advantages like increased plant density, protection from hail and rain or reduction of certain fungal diseases (15). However, less is known about changes of nutritional ingredients in fruits grown in plastic tunnels. The main used plastics are standard polyethylene foils, which are not transparent for UVB radiation.

However, different materials are available, which vary in their transparency for UV radiation (16). Plants often respond to UV light, which affects flavonoid biosynthesis genes (17). Phenolics can act as UV-protectors e.g. because of their absorption of light between 270 and 290 nm. Detailed investigations of different UV transparent plastic foils were focused on bioactives in lettuce (18, 19). Furthermore, research on ultraviolet radiation and phenolic substances was performed with grapes, tomatoes and apples (20–22). The treatments with reduced UVB irradiation generally resulted in lower contents of secondary plant metabolites in the crops. In contrast, also increases of individual phenolics were observed during UVB absence in grapes (20). Recently, studies with strawberries grown under plastic films, which differ in their UV transparency, affected neither the content of anthocyanins nor the antioxidant capacity (23).

*Corresponding author. Mailing address: Hochschule RheinMain—University of Applied Sciences, Wiesbaden Rüsselsheim Geisenheim and Geisenheim Research Center—Department of Pomology, Von-Lade Str. 1, 65366 Geisenheim, Germany. Tel: +49 6722-502573. Fax: +49 6722-502560. E-mail: m.josuttis@fa-gm.de.

Article

In the present study, the influence of tunnel cultivation with two different films compared to open-field grown strawberries was investigated. The aim was to analyze the impact of UV radiation on bioactives in strawberries with respect to agronomical and quality parameters like leaf area:yield ratio, soluble solids content and titratable acidity. Therefore the content of ascorbic acid, total anthocyanins and antioxidant capacity was determined. High performance liquid chromatography (HPLC) analysis was performed to detect alteration of the major individual polyphenols. In a subtrial the external ("peel") and internal tissues ("flesh") of strawberries cv. Everest were analyzed separately to determine the distribution of phenols in strawberry and to evaluate putative UV-protectors. To avoid influences of the sampling date fruits from the three treatments; blocking film, window film and open-field were sampled and compared on the same day with consideration of the fruit size.

MATERIALS AND METHODS

Chemicals. Folin–Ciocalteu's phenol reagent was purchased from VWR (Darmstadt, Germany); L-(+)-ascorbic acid from Carl Roth GmbH (Karlsruhe, Germany); 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS), (\pm)-6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (Trolox), 2,2'-azobis(2-methylpropanamide)dihydrochloride (AAPH), gallic acid monohydrate (3,4,5-trihydroxybenzoic acid) and fluorescein sodium salt was from Sigma Aldrich (Steinheim, Germany). The standards for HPLC analysis were ellagic acid and coumaric acid obtained from Sigma Aldrich, cyanidin 3-O-glucoside, kaempferol 3-O-glucuronide and pelargonidin 3-O-glucoside from Extrasynthèse (Genay Cedex, France) and quercetin 3-O-glucuronide from Carbosynth (Berkshire, U.K.).

Plant Material and Field Experiments. In 2008, ever-bearing strawberry plants (*Fragaria* \times *ananassa* Duch. L. cv. Everest) were grown at Landwirtschaftskammer Köln-Auweiler (Germany) soilless in peat bags under a four span plastic tunnel (Haygrove, length 34 m, width of each span 5.5 m) with automatic control of irrigation and fertilization. Two spans were covered with a standard film (blocking film) and the other two with a UV transparent film (window film). Plastic films were purchased from folitec Agrarfolien-Vertriebs GmbH (Westerburg, Germany). The blocking film was UV M 42 (clear, thickness 190 μ m, transmittance 89/90%, UVB transparency 0%) and window film was UV B window (clear, thickness 190 μ m, transmittance 89/90%, UVB transparency 70%). The assured transparency of the films was confirmed by photometric measurements (Figure 1). A control was cultivated under open-field conditions and covered with a net for crop protection against birds. The harvest started for the open-field treatment June 29 and was completed September 28. Strawberry plants in the high-tunnel were harvested from May 25 to November 2. Protected cultivation extended the harvest period of the ever-bearer cv. Everest because of increased temperatures. In 2009, the trial was repeated with the same film types at the Geisenheim Research Center (Germany). In addition, the June-bearer cv. Elsanta was planted. Both cultivars were set in the middle of May in bare soil, irrigated and covered with an open-sided tunnel (Haygrove, length 30 m, width 8 m) June 10. The harvest period for cv. Elsanta was from June 29 to July 27 outside and in the tunnel from June 25 to July 27. The first inflorescences of cv. Everest were removed as is common for ever-bearers, and the harvest began for all treatments on July 16 and was stopped on August 20.

For the period of the trials, air temperature and photosynthetically active radiation (PAR) were measured every 10 min for all treatments and collected using a data-logger in both years. The two plastic films transmitted similar amounts of PAR, which was comparable to the outside treatment with net in 2008 (around 98% of natural light under the net). In 2009, PAR radiation in the tunnel was 87% compared to the open-field only, because of the missing net. All trials were carried out in three repetitions with a minimum of 40 plants per plot and harvested in a three/four day rhythm. 500 g of healthy, nondamaged fruits from each treatment and replication were collected twice: for cv. Everest at the beginning of the harvest and two weeks later and for cv. Elsanta at harvest beginning and already one week later because of its shorter harvest period, respectively.

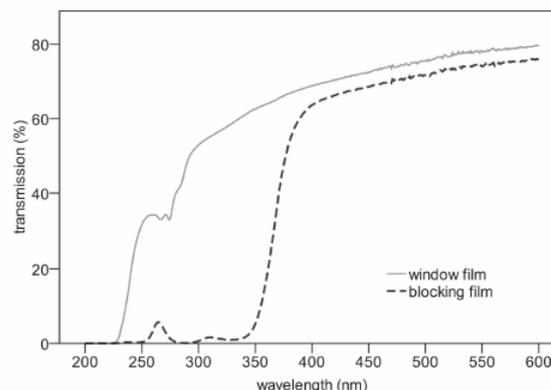


Figure 1. Spectral transmission of the blocking film in comparison to the window film used in this study.

Leaf Area. In 2009, the leaf area was analyzed; five complete plants per treatment and repetition were measured directly after the harvest period with a leaf area meter (LI-3100C, Licore, Lincoln, NE, USA).

Sample Preparation. The fruits were quartered and, to avoid bias, the counterparts of the fruits were immediately snap frozen in liquid nitrogen at sampling date, stored at -28 °C and milled to powder later on. The other two quarters of the fruits were homogenized with a hand blender, and the resulting puree was used for determinations of soluble solids content, titratable acidity and dry matter. Each biological replicate was analyzed separately.

To evaluate the distribution of phenolics in strawberry fruits, an additional sampling date of the cv. Everest in 2009 was fixed for a tissue trial. Therefore the sliced fruits were lyophilized, and the external tissue (peel, 2.5 mm) was separated from the internal tissue (flesh) and milled to a fine powder, which was used for determination of total phenol content and HPLC analysis.

Soluble Solids Content (SSC), Dry Matter and Titratable Acidity. The puree was directly measured with a digital refractometer (A. Krüss Optotronic GmbH, Hamburg, Germany) to determine SSC in %. For total dry matter content five grams of puree per sample was mixed with sea sand and dried for approximately four hours at 103 °C until the last weighing step was stable. The dry matter content was expressed in % of fresh weight. Titratable acidity was determined by resuspending five grams of strawberry puree with 50 mL of water. This mixture was automatically titrated (Schott-Titrator, Titroline Alpha; software, Titrisoft) with $0.33 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ sodium hydroxide. Results were expressed as citric acid in % of fresh weight.

Ascorbic Acid. The ascorbic acid content was determined by iodometric titration. Five grams of frozen strawberry powder was extracted twice with 10 mL of oxalic acid (2%, w/v) and centrifuged. The supernatants were collected, acidified with sulfuric acid (10%) and determined with automatic potentiometric titration (Schott-Titrator, Titroline Alpha Plus; software, Titrisoft) with a $1/128 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ iodide–iodate solution. Results were expressed as ascorbic acid in μg per g fresh weight.

Total Anthocyanins and Total Phenols Content. Five grams of frozen strawberry powder was extracted twice ultrasound-assisted for 30 min with 10 mL of 80% methanol. For the tissue trial 500 mg of lyophilized powder was used for the extraction. Supernatants were collected and the methanol was added to a volume of 25 mL for the following analysis as previously described (24). Briefly, total anthocyanins were determined by the pH differential method (25) and the extracts were diluted with two buffer solutions at pH 1 and 4.5. The absorbance was measured at 500 and 700 nm, and the results were calculated as μg of pelargonidin 3-glucoside per g fresh weight with a molar absorption coefficient of $15,600 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ for pelargonidin 3-glucoside. Total phenols were determined by the Folin–Ciocalteu method (26) using gallic acid as reference compound. The absorbance was measured after 60 min at 760 nm, and the total phenol content was expressed as μg of gallic acid equivalents per g fresh weight.

Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) Assay. The TEAC assay was carried out as previously described (24). In brief,

Table 1. Effect of Cultural System on Agronomical Parameters in 2009^a

cultivar	treatment	single leaf area (cm ²)	leaf area per plant (cm ²)	leaf area:yield ratio (cm ² /g)	yield (g/plant)	mean fruit wt (g)
'Everest'	blocking	36 ± 3 c	2210 ± 616 c	5.8 ± 1.0 b	390 ± 90 b	14.2 ± 0.8 b
	window	37 ± 4 bc	2451 ± 591 c	7.6 ± 1.1 b	321 ± 8 bc	14.5 ± 0.4 b
	open-field	41 ± 4 a	3790 ± 982 b	7.5 ± 0.6 b	505 ± 35 a	17.8 ± 0.2 a
'Elsanta'	blocking	27 ± 7 e	2399 ± 549 c	14.3 ± 1.1 a	168 ± 13 d	11.8 ± 0.4 c
	window	24 ± 4 e	2181 ± 675 c	15.2 ± 1.5 a	143 ± 15 d	11.6 ± 0.2 c
	open-field	32 ± 5 d	4622 ± 1150 a	15.1 ± 1.1 a	305 ± 25 c	11.9 ± 0.6 c
Significance ^b						
treatment		*	**	ns	**	**
cultivar		**	ns	**	**	**
treatment x cultivar		ns	ns	ns	ns	**

^aData are expressed as the mean ± standard deviation ($n = 3$). Means within the same column followed by different letters were significantly different at $p < 0.05$. ^bns = nonsignificant. *Significant at $p < 0.05$. **Significant at $p < 0.01$.

45 mmol·L⁻¹ potassium persulfate was added to a 7 mmol·L⁻¹ ABTS solution in 50 mmol·L⁻¹ phosphate buffer (pH 7.4) to generate a stable ABTS radical cation solution overnight. Before measuring, the ABTS^{•+} solution was diluted with phosphate buffer to an absorbance of 0.800 ± 0.050. This solution was mixed with the buffer diluted supernatants from the extracts described above in a ratio of 1:20. The absorbance was measured after 6 min at 734 nm. Trolox was used as a reference compound, and the antioxidant capacity was expressed in μmol of Trolox equivalents per g of fresh weight.

Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) Assay. For the measurement of the antioxidant capacity by a hydrogen atom transfer, the ORAC assay was applied after Huang et al. (27). The analysis was carried out on a black 96-well plate with a microplate reader (Infinite M200, Tecan). Each well was filled with a 20 μL sample (diluted supernatants from the methanolic extracts described above), blank or Trolox-standard (12.5 μmol·L⁻¹ to 100 μmol·L⁻¹) and 120 μL of fluorescein (120 nmol·L⁻¹). After 5 min incubation 60 μL of AAPH-solution (40 mmol·L⁻¹) was added. The fluorescence was recorded every minute for 90 min at 37 °C with an excitation wavelength of 485 nm and an emission wavelength of 520 nm. The ORAC values refer to the net area under the quenching curve (AUC). The final ORAC values were calculated by linear regression of the Trolox standards with the Magellan software and expressed as μmol per g of fresh weight.

HPLC Analysis of Phenolic Compounds. The methanolic extracts described above were directly analyzed using a ThermoFinnigan Surveyor HPLC system coupled with a photodiode array detector (PDAD), pump, and autosampler to separate and quantify individual phenolic compounds, which was controlled with Chromquest software 4.1. A 3 μL filtrated sample was injected using a Reprosil-PurC18AQ (Dr. Maisch GmbH, Ammerbuch-Entringen, Germany) column (150 × 2 mm, 3 μm) with a guard column. The mobile phase was acidified water containing 2% acetic acid (A) and acetonitrile/water/acetic acid (50/49.5/0.5) (B) with the following gradient: 0–31.5 min, 55% B; 31.5–37.5 min, 100% B; 37.5–41 min, 10% B with a flow of 200 μL·min⁻¹ and an equilibration time of 10 min. The PDAD scanned 250 to 600 nm with three discrete channels at 280, 360, and 500 nm. The main peaks were analyzed and calculated with available standards. The results were given in μg per g fresh weight. Peaks were identified by HPLC ESI-MS on an Accela HPLC system coupled to a LXQ mass spectrometer (Thermo Scientific, Dreieich, Germany) equipped with an ESI source and a linear ion trap mass analyzer. HPLC conditions were the same as described above. The whole system was controlled by the Xcalibur software. For polyphenols, the mass spectrometer was operated in the positive and the negative mode with the following conditions: source voltage 4.5 kV; capillary voltage 26 V; capillary temperature 275 °C. Dependent scans were carried out on target peaks for MSⁿ scans with a collision energy of 35%.

Analysis of Conjugated Ellagic Acid and Ellagitannins after Hydrolysis. Because of nonavailable standards ellagitannins were analyzed after hydrolysis as ellagic acid equivalents. 1.5 g of strawberry powder and 150 mg of lyophilized strawberry powder for the tissue trial, respectively, was mixed with 5 mL of 50% methanol with 1.2 mol·L⁻¹ hydrochloric acid and incubated at 80 °C for 8 h according to Häkkinen et al. (28). The hydrolyzed suspension was filled to 10 mL, filtrated and analyzed with the same HPLC system as described above on an ODS-A (Dr. Maisch GmbH,

Ammerbuch-Entringen, Germany) column (125 × 2 mm, 5 μm). The mobile phase was 5% formic acid (A) and methanol (B) according to the following gradient: 0–25 min, 50% B; 25–37 min, 90% B; 37–39 min; 10% B; 39–46 min, 10% B with a flow of 200 μL·min⁻¹. The amount of ellagic acid was calculated at a wavelength of 255 nm and given in μg per g fresh weight.

Statistical Analysis. All data were analyzed statistically with analysis of variance using SPSS (version 17). The means of all parameters were compared with Duncan's test. Differences of $P < 0.05$ were considered as significant. Results were given as a mean ± standard deviation (SD). A principal component analysis (PCA) was performed with XLSTAT 2010 for the bioactive components to get an overview of the relationship between the analyzed data. PCA is an effective tool for reducing dimensions of a data set by creating a matrix and describing major trends. The score plot visualizes the distribution of the sample, which can be used for grouping the observations. The loading plot shows the importance and interactions of the variables correlating with the distribution of the samples. To suppress the effect of sampling, each value was divided with the mean of the open-field value per each sampling date. The data were autoscaled to supply comparable weights for all parameters. Accordingly, the four sampling dates for cv. Everest in 2008 and 2009 were compared and also the two sampling dates for cv. Elsanta in 2009.

RESULTS

Agronomical Parameters: Not Affected by UV Radiation. The three different treatments blocking film, window film and open-field were distinguished mainly in temperature and the films in UV transparency (Figure 1). The mean temperature outside was 19.5 °C ± 1.0 °C for each date calculated for four weeks prior to sampling. In 2008, the average daily mean temperature under the films was +2.0 °C (blocking film) or +2.5 °C (window film) and the average daily maximum temperature +6.5 °C (blocking film) to +8.0 °C (window film) higher than the open-field treatment. In 2009, the temperature differences were lower than in 2008 due to the use of an open-sided tunnel and better air exchange (mean temperature: +1.1 °C to +1.4 °C and maximum temperature +2.6 °C to +3.4 °C, respectively) Despite the fact that a single tunnel was used in both experimental years, temperature under the window film was higher than under the blocking film. The window film was transparent for radiation from 230 nm and the blocking film from 340 nm (Figure 1).

The environmental parameters affected the plant performance, i.e., leaf area, yield or fruit size (Table 1). In the first experimental year the yields of the two tunnel treatments (blocking film 1152 g/plant, window film 1138 g/plant) were significantly enhanced compared to the open-field yield (850 g/plant) because of an extended harvest period of the ever-bearer cv. Everest. In the second year, a higher yield of around 150 g more per plant was observed under open-field conditions for both cultivars compared to tunnel cultivation (Table 1). In addition, open-field grown plants of each cultivar had the highest total and single leaf area.

Article

Table 2. Effects of Cultural System on Quality Parameters Like Dry Matter, Titratable Acidity and Soluble Solids^a

cultivar/year	sampling date	treatment	mean fruit wt of the sample (g)	dry matter (%)	titratable acidity (%)	soluble solids content (% Brix)
'Everest' 2008	T1	blocking	13.7 ± 2.0 d	7.3 ± 0.1 h	0.77 ± 0.05 bcd	6.3 ± 0.1 h
		window	13.8 ± 1.8 d	7.8 ± 0.2 hg	0.83 ± 0.03 b	6.3 ± 0.1 h
		open-field	15.4 ± 2.1 bc	9.2 ± 0.3 f	0.72 ± 0.02 def	8.0 ± 0.1 de
	T2	blocking	15.0 ± 0.7 bc	8.2 ± 0.5 g	0.67 ± 0.03 f	7.0 ± 0.2 g
		window	17.7 ± 0.8 b	8.1 ± 0.5 g	0.66 ± 0.01 f	7.0 ± 0.1 g
		open-field	14.6 ± 0.9 cd	9.1 ± 0.5 f	0.81 ± 0.01 bc	7.7 ± 0.3 ef
'Everest' 2009	T1	blocking	17.7 ± 1.0 b	10.5 ± 0.5 bcde	0.93 ± 0.04 a	9.2 ± 0.6 b
		window	15.3 ± 1.2 bc	10.6 ± 0.1 bcde	0.97 ± 0.03 a	9.5 ± 0.1 b
		open-field	17.6 ± 2.1 b	10.3 ± 0.2 cde	0.88 ± 0.01 a	9.1 ± 0.1 b
	T2	blocking	13.8 ± 0.8 d	10.0 ± 0.4 de	0.76 ± 0.01 cde	7.4 ± 0.6 fg
		window	13.7 ± 0.8 d	10.6 ± 0.4 bcde	0.84 ± 0.01 bc	8.0 ± 0.3 cde
		open-field	21.3 ± 3.5 a	10.4 ± 0.1 bcde	0.83 ± 0.02 bc	8.3 ± 0.3 cd
'Elsanta' 2009	T1	blocking	13.0 ± 0.4 d	10.7 ± 0.4 bcd	0.78 ± 0.05 bc	8.4 ± 0.2 cd
		window	12.8 ± 0.6 d	11.6 ± 0.3 b	0.76 ± 0.03 bc	8.5 ± 0.3 c
		open-field	16.6 ± 1.3 bc	10.5 ± 0.3 bcde	0.79 ± 0.03 bc	8.3 ± 0.2 cd
	T2	blocking	7.6 ± 0.7 f	11.3 ± 0.8 b	0.71 ± 0.04 ef	10.3 ± 0.3 a
		window	7.6 ± 0.2 f	12.5 ± 0.6 a	0.72 ± 0.05 def	10.5 ± 0.3 a
		open-field	10.2 ± 0.2 e	10.9 ± 0.2 bc	0.70 ± 0.04 f	9.1 ± 0.3 b

Significance^b

treatment	**	ns	ns	ns
cultivar	**	**	**	**
sampling	**	ns	**	*
treatment × cultivar	ns	ns	ns	*
treatment × sampling	ns	ns	ns	ns
treatment × cultivar × sampling	ns	ns	ns	ns

^aData are expressed as the mean ± standard deviation ($n = 3$). Means within the same column followed by different letters were significantly different at $p < 0.05$. ^bns = nonsignificant. *Significant at $p < 0.05$. **Significant at $p < 0.01$.

For both cultivars none of the parameters were affected by the different film types and were therefore UV independent (Table 1). Furthermore, the leaf area:yield ratio was not significantly affected by the treatments. However, plants under the blocking film showed a tendency toward a closer leaf area:yield ratio than plants of the other two treatments. The mean fruit weight was increased for fruits of the cv. Everest in both years. In 2008, the mean fruit size of tunnel grown fruits was 15.5 g and significantly different for open-field fruits with 17.4 g. This effect was not observed for cv. Elsanta when grown under open-field conditions.

Quality Parameters. For both cultivars UV radiation did not affect the fruit size. In general, the fruit size of ever-bearers like cv. Everest alternates during their long harvest period. This was confirmed in our study. In contrast, the fruit size of June-bearers decreases continuously during the harvest period. The beginning of the June-bearer cv. Elsanta, harvested in the open-field, was four days later than in the tunnel, consequently the tunnel-grown fruits cv. Elsanta were smaller than open-field fruits at the same sampling date (Table 2).

Dry matter, titratable acidity and SSC were only inconsistently affected by the different treatments. Only in 2008, the open-field treatment increased significantly the dry matter and SSC in the fruits at both sampling dates, but no influence of UV radiation was observed (Table 2).

Overview UV-Effects on Bioactive Compounds: Characterization with Principal Component Analysis (PCA). For PCA only the 17 health-related parameters ascorbic acid, antioxidant capacity, colorless phenols and anthocyanins were considered. The result was displayed for principal component (PC) 1 and PC2, which explained for cv. Everest 70.9% of the data and for cv. Elsanta 56.5% (Figures 2 and 3). The 17 variables discriminated for cv. Everest mainly the treatment blocking film while the treatments window film and open-field were not clearly separated. Separation of the UV treatments was mainly caused by the content of anthocyanin cyanidin 3-glucoside, the flavonols quercetin

3-glucuronide, kaempferol 3-glucoside and the TEAC value. All other analyzed anthocyanins were correlated with the total anthocyanin content and split window film and blocking film of the first cultivation year (2008) from all other samples. Antioxidant capacity measured by ORAC, TEAC and total phenols was not correlated with anthocyanins except for cyanidin 3-glucoside, but with the ellagic acid content after hydrolysis, quercetin 3-glucuronide and kaempferol 3-glucoside. *p*-Coumaroyl glucose was for this cultivar negatively correlated to the anthocyanins and not correlated to all other parameters (Figure 2). For cv. Elsanta all three treatments were clearly clustered (Figure 3). The three flavonoids quercetin 3-glucuronide, kaempferol 3-glucoside including kaempferol 3-glucuronide and cyanidin 3-glucuronide separated UV-treated and UV-untreated fruits correlating negatively with *p*-coumaroyl glucose. All other health-related parameters were independent of these two groups with strong interactions (Figure 3).

Ascorbic Acid, Total Anthocyanins and Antioxidant Capacity. Overall, the treatments did not affect the content of ascorbic acid and total anthocyanins in fruits of both cultivars. Ascorbic acid was significantly affected by cultivar only and total anthocyanins by cultivar and the sampling date (Table 3). However, in 2008 the content of total anthocyanins was enhanced in strawberries of cv. Everest growing under plastic, but no effect was observed among the treatments in 2009 (Table 3). The antioxidant capacity of both cultivars measured with the three assays total phenols, TEAC and ORAC was significantly affected by the treatment, but no clear UV-effects were observed (Table 3). In general, significant differences among the treatments were lower than 15% and the variation among the sampling dates was partially higher than between the three treatments. The cultivars were distinguished only in antioxidant capacity measured by the ORAC-assay (Table 3).

Composition of Individual Anthocyanins. At all sampling dates significant effects for both cultivars were observed only for

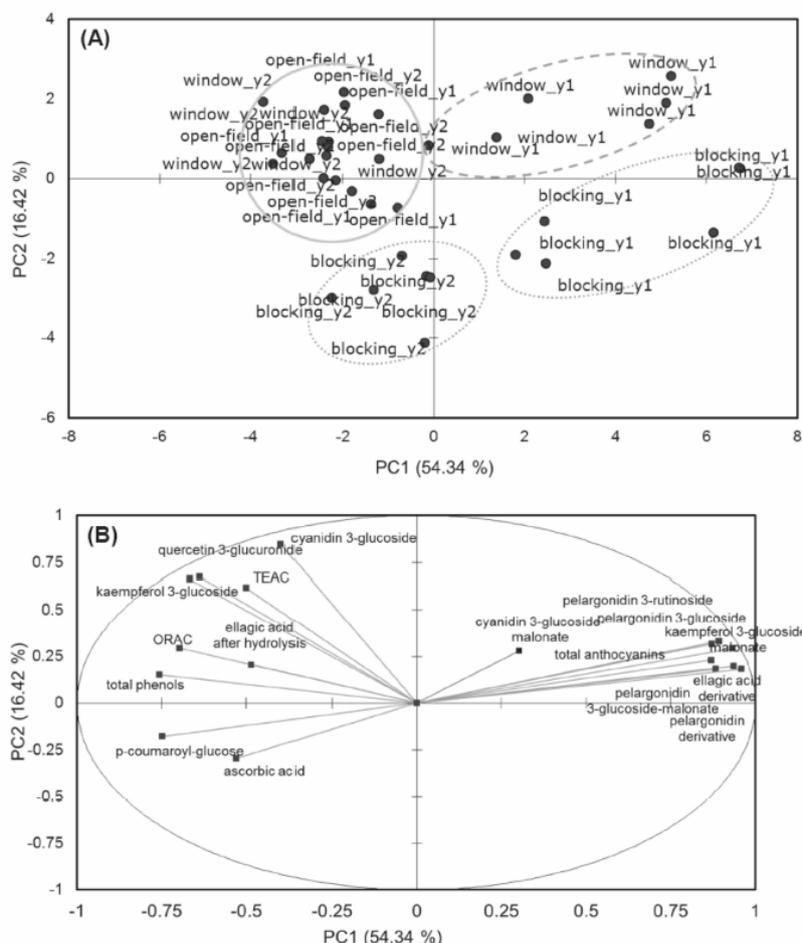


Figure 2. Principal component analysis (PC1 and PC2) of the different treatments blocking film, window film and open-field on cv. Everest score plot (A) and loading plot of the bioactives (B). The ending _y1 indicates the samples of the first experimental year (2008) and _y2 of the second experimental year (2009). Kaempferol 3-glucoside includes kaempferol 3-glucuronide.

cyanidin 3-glucoside and pelargonidin 3-glucoside-malonate content (Table 4). For each sampling date the content of cyanidin 3-glucoside was significantly reduced in fruits grown under blocking film compared to those grown under the window film or under open-field conditions, respectively (Table 4). The content ranged in fruits of cv. Everest (cv. Elsanta) treated with blocking film from 11.1 μg to 18.9 μg (1.9 μg to 4.9 μg) and in fruits treated with window film or open-field fruits from 16.6 μg to 25.7 μg (5.7 μg to 15.0 μg) per g fresh weight. As a result the formation of cyanidin 3-glucoside was influenced by UV radiation predicted by the PCA (Figures 2 and 3). The pelargonidin 3-glucoside-malonate content was decreased in open-field grown fruits of cv. Everest only in 2008, but in this year all other pelargonidin related anthocyanins were decreased, too (Table 4). Concerning cv. Elsanta the amount of pelargonidin 3-glucoside-malonate was decreased in open-field fruits only at the first sampling date. The PCA results showed that only cyanidin 3-glucoside was independent from all other anthocyanins while pelargonidin 3-glucoside-malonate was correlated with them (Figure 2). Consequently, this anthocyanin was not affected by UV radiation. Both cultivars were significantly different for all analyzed anthocyanins. Sampling date influenced all anthocyanins

except for pelargonidin 3-rutinoside in cv. Everest, which was not detected in cv. Elsanta.

Composition of the Major Colorless Polyphenols. The main effect on colorless phenols was observed on the content of quercetin 3-glucuronide and kaempferols in both cultivars (Figures 2 and 3, Table 5). The absence of UV radiation decreased strongly the content of quercetin 3-glucuronide at each sampling date. Fruits of cv. Everest and cv. Elsanta produced under blocking film contained only approximately 85% and 75% less of this flavanol, respectively, compared to open-field grown fruits, whereas the strawberries treated with window film contained approximately 40% less quercetin 3-glucuronide compared to open-field fruits in 2008. In 2009, they reached up to similar amounts as the open-field grown strawberries in both cultivars (Table 5). The impact on kaempferol-derivatives was not as strong as on quercetins and dependent on glycosylation. Kaempferol 3-glucoside and kaempferol 3-glucuronide, respectively, were for both cultivars negatively affected by missing UV radiation and correlated with the quercetin content (Figures 2 and 3). In cv. Everest approximately 35% less kaempferol 3-glucoside under blocking film and 15% under window film compared to the open-field fruits were found. For cv. Elsanta this kaempferol content was

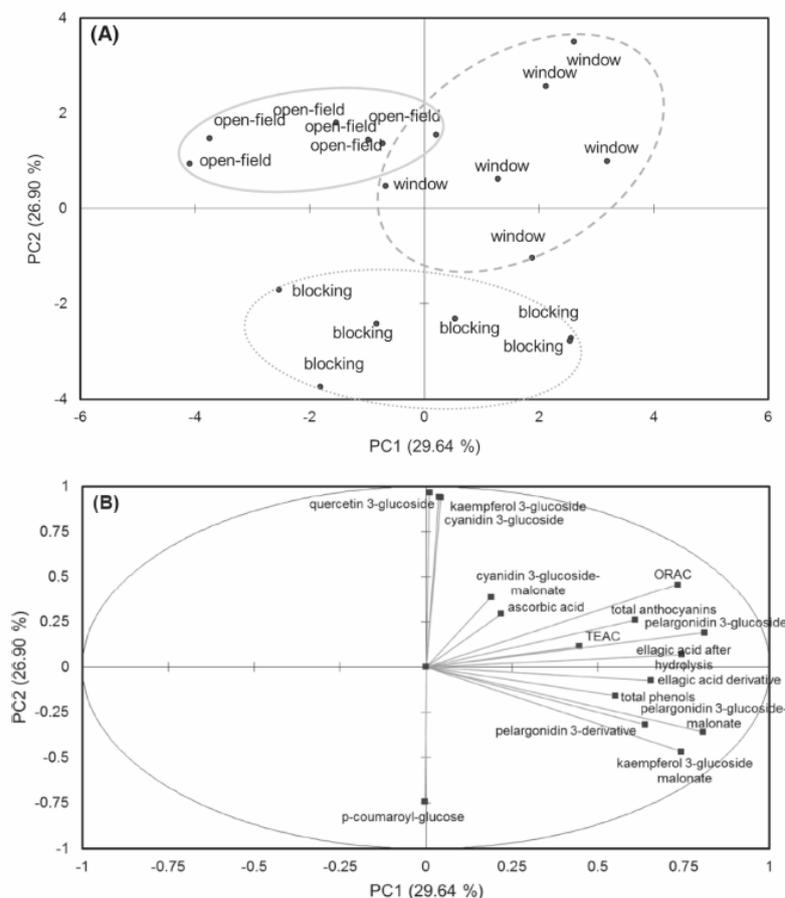


Figure 3. Principal component analysis (PC 1 and PC 2) of the different treatments blocking film, window film and open-field on cv. Elsanta score plot (A) and loading plot of the bioactives (B). Kaempferol 3-glucoside includes kaempferol 3-glucuronide.

decreased in fruits produced under the blocking film, too, but no differences were observed between the other two treatments, window film and open-field (Table 5). The formation of kaempferol 3-glucoside-malonate was not obviously affected by UV radiation (Table 5). PCA results showed that this kaempferol was for both cultivars correlated with all pelargonidin related anthocyanins (Figures 2 and 3).

The content of ellagic acid after hydrolysis of the ellagitannins and the ellagic acid derivative was significantly influenced by the treatment and by the sampling date, but no effects of UV radiation could be ascertained (Table 5). Ellagic acid after hydrolysis was correlated with antioxidant capacity for both cultivars. However, for cv. Everest no interaction of the ellagic acid after hydrolysis with the ellagic acid derivative was observed.

Overall, the content of *p*-coumaroyl glucose was not affected by the treatment or by the sampling date but by the cultivar (Table 5). Nevertheless, there was no or a negative correlation with this phenolic acid and all other bioactive compounds. For cv. Everest, *p*-coumaroyl glucose correlated negatively with pelargonidin related anthocyanins, kaempferol 3-glucoside-malonate and ellagic acid derivative but not with the UV affected parameters like quercetin 3-glucuronide, kaempferol 3-glucoside and cyanidin 3-glucoside, whereas for cv. Elsanta, *p*-coumaroyl glucose was negatively correlated with these three flavonoids, consequently the content was enhanced in UV-untreated fruits.

However, no correlation of *p*-coumaroyl glucose with all other bioactives was observed (Figures 2 and 3).

Distribution of Polyphenols in Strawberry Flesh and Peel. To work out if the determined effects are limited to the surface of strawberry fruits, external and internal tissues were analyzed separately. The peel contained higher amounts of total phenols (3800 mg per 100 g dry weight) than the flesh (2300 mg per 100 g dry weight) (Table 6). All detected phenols except for *p*-coumaroyl glucose were up to 10 times higher in the peel than in the flesh (Tables 6 and 7). The content for *p*-coumaroyl glucose was similar in both tissues and enhanced in the peel of UV-untreated fruits as observed in cv. Elsanta. The previous result, which was determined in the whole fruits, was mainly confirmed by this additional sampling. However, significant effects for quercetin 3-glucuronide, kaempferol derivatives (Table 6) and cyanidin 3-glucoside (Table 7) were only observed in the peel of the fruits. The results for the flesh showed the same tendency as the external tissue.

DISCUSSION

The main objectives when applying different cultural systems are out-of-season production or high yields with high quality fruits. However, it is important that the nutritional value is not disregarded. In order to estimate the effect of UV radiation on

Table 3. Effects of Cultural System on Ascorbic Acid, Total Anthocyanins and Antioxidant Capacity^a

cultivar/year	sampling date	treatment	ascorbic acid ^b	total anthocyanins ^c	total phenols ^d	TEAC ^e	ORAC ^e
'Everest' 2008	d1	blocking	551 ± 33 f	647 ± 26 a	2097 ± 23 bcde	23.0 ± 0.5 ij	32.4 ± 2.4 ghi
		window	564 ± 30 f	641 ± 36 a	2341 ± 85 ab	26.5 ± 0.9 defgh	37.1 ± 1.4 def
		open-field	609 ± 20 ef	553 ± 41 b	2254 ± 195 abc	24.4 ± 2.7 hi	36.8 ± 2.7 def
	d2	blocking	563 ± 15 f	692 ± 30 a	1822 ± 71 f	20.7 ± 0.8 jk	29.1 ± 1.3 i
		window	559 ± 16 f	692 ± 19 a	1869 ± 60 ef	20.2 ± 0.5 k	35.2 ± 1.5 efg
		open-field	614 ± 15 ef	484 ± 21 de	2254 ± 202 abc	24.0 ± 1.3 hi	34.4 ± 2.1 fgh
'Everest' 2009	d1	blocking	753 ± 31 c	383 ± 36 ghi	2327 ± 121 ab	28.9 ± 1.5 bod	37.0 ± 0.1 def
		window	675 ± 14 de	382 ± 9 ghi	2460 ± 234 a	31.6 ± 0.9 a	39.0 ± 0.1 cde
		open-field	574 ± 9 f	418 ± 33 fgh	2224 ± 106 abc	28.6 ± 0.1 bcd	36.4 ± 1.2 def
	d2	blocking	730 ± 23 cd	426 ± 33 fg	1897 ± 177 def	25.2 ± 1.6 efghi	31.4 ± 2.3 hi
		window	740 ± 29 cd	409 ± 38 fgh	2423 ± 94 a	29.8 ± 2.1 bc	38.4 ± 2.5 cde
		open-field	740 ± 33 cd	409 ± 42 fgh	1937 ± 109 def	27.3 ± 2.0 cdefg	37.4 ± 0.4 def
'Elsanta' 2009	d1	blocking	893 ± 30 a	362 ± 24 hi	2195 ± 30 abc	28.6 ± 0.1 bcde	39.6 ± 0.6 bcd
		window	855 ± 30 ab	369 ± 12 hi	2416 ± 228 a	26.8 ± 0.8 defg	43.3 ± 3.1 ab
		open-field	896 ± 15 a	343 ± 22 i	2196 ± 138 bcd	27.7 ± 1.4 cdefg	41.2 ± 1.8 bc
	d2	blocking	768 ± 24 c	497 ± 14 d	2277 ± 89 ab	25.8 ± 0.3 efghi	41.1 ± 2.6 bc
		window	796 ± 69 bc	573 ± 25 b	2275 ± 164 ab	30.0 ± 2.4 ab	45.6 ± 2.2 a
		open-field	866 ± 45 a	540 ± 48 bc	2052 ± 140 cdef	25.0 ± 1.5 fghi	32.1 ± 1.5 ghi
Significance ^f							
treatment			ns	ns	*	*	**
cultivar			**	*	ns	ns	**
sampling			ns	**	**	ns	**
treatment × cultivar			ns	ns	*	ns	**
treatment × sampling			ns	ns	ns	ns	**
treatment × cultivar × sampling			ns	ns	ns	ns	**

^a Data are expressed as the mean ± standard deviation ($n=3$). Means within the same column followed by different letters were significantly different at $p < 0.05$. ^b Data are expressed in micrograms per gram of fresh weight. ^c Data are expressed as micrograms of pelargonidin 3-glucoside equivalents per gram of fresh weight. ^d Data are expressed as micrograms of gallic acid (GAE) equivalents per gram of fresh weight. ^e Data are expressed as micromoles of Trolox equivalents per gram of fresh weight. ^f ns = nonsignificant.

bioactives in this study, two films differing in UV transparency (Figure 1) were used. Moreover, tunnel-grown strawberries and open-field grown fruits were compared focusing on health-beneficial components, for the first time to our knowledge.

Strawberry fruits contain a complex mixture of polyphenols, which contribute, together with ascorbic acid, to their antioxidant capacity in different ways, depending on the used assay, chemical constitution, content or synergistic effects of individual components. Considering these bioactives, PCA was able to discriminate among the fruits of the three treatments; blocking film, window film and open-field. The main characterization of both cultivars was caused by the content of the flavonols quercetin 3-glucoside, kaempferol 3-glucoside including kaempferol 3-glucuronide and the anthocyanin cyanidin 3-glucoside and separated UV-treated and UV-untreated fruits. All other health-related parameters did not explain a UV effect.

At one point in the sampling dates we could observe significant effects of the treatments in antioxidant capacity, but the differences were generally lower than 15% (Table 3). Fruits grown under blocking film had tended to a lower antioxidant capacity than under the window film, but also open-field grown fruits often showed the lowest values. This result was not sufficient for a certain conclusion of UV-effects on antioxidant capacity and agrees with the published research of soft fruits (23). The main research on tunnel cultivation and health-related compounds focused on leafy vegetables (18, 19) and tomato fruits (21). In these studies the content of total phenols was enhanced with UV treatment.

Regarding the total anthocyanin result, UV radiation did not affect the content in our study. Other investigations observed positive UV effects for lettuce on the total anthocyanin content (18, 19, 23) but not for strawberries and other soft fruits (23). However, in 2008 we could observe less total anthocyanins

(Table 3) and pelargonidin related anthocyanins (Table 4) in open-field fruits at both sampling dates. This observation could be explained by higher temperature differences measured during the first experimental year compared to the second. Wang et al. (10) found a strong correlation between temperature and anthocyanin content. In the face of the enhancement of total anthocyanins in 2008, it is astonishing that the formation of cyanidin 3-glucoside was inhibited in the absence of UV radiation for all sampling dates. In 2009, this result was confirmed, and a higher cyanidin 3-glucoside content was observed in both cultivars. Nevertheless, cyanidin 3-glucoside-malonate and all other pelargonidin related compounds were not affected by UV radiation. In strawberries, cyanidins are minor pigments, but they occur as major anthocyanins in the lettuce Lollo Rosso and therefore explain the detected enhancement of the total anthocyanins in these studies. The skin of several apple varieties contains cyanidin-related anthocyanins, which are mainly formed on the sun exposed side (22). Postharvest treatments with UVB radiation could enhance the total anthocyanin content, too (29).

During this study the main effect of UV radiation on strawberries was observed in the enlarged formation of quercetin derivatives. Strawberries grown without UV radiation contain only 15% to 25% of the amount compared to open-field grown fruits. By means of a UV transparent film, quercetin contents were increased from 50% up to similar contents as in open-field grown fruits (Table 5). Kaempferol 3-glucoside and kaempferol 3-glucuronide were decreased in the absence of UV radiation but less than quercetin, while kaempferol 3-glucoside-malonate was not affected. In addition, the lack of UV radiation caused by the blocking film increased the content of *p*-coumaroyl glucose in the whole fruits of cv. Elsanta and also in the peel of cv. Everest, while their flesh was affected in tendency, only. More research in this context is required to clarify if this result is a cultivar effect or an

Table 4. Effects of Cultural System on Individual Anthocyanins^a

cultivar/year	sampling date	treatment	cyanidin 3-glucoside ^b	pelargonidin 3-glucoside ^c	pelargonidin 3-rutinoside ^{c, d}	pelargonidin derivative ^c	cyanidin 3-glucoside-malonate ^b	pelargonidin 3-glucoside-malonate ^c
'Everest' 2008	d1	blocking	12.8 ± 1.4 ef	357.9 ± 25.4 a	32.7 ± 2.3 a	2.1 ± 0.1 de	5.3 ± 0.5 bcd	75.8 ± 4.6 de
		window	21.0 ± 1.6 bc	377.0 ± 40.7 a	34.6 ± 3.0 a	2.6 ± 0.9 cd	6.8 ± 0.6 ab	74.2 ± 12.6 e
		open-field	23.8 ± 3.5 ab	307.6 ± 29.6 b	26.1 ± 2.9 b	2.0 ± 0.3 defg	5.3 ± 0.6 bcd	56.5 ± 5.2 fg
	d2	blocking	18.9 ± 2.5 cd	372.9 ± 16.3 a	36.0 ± 2.6 a	3.3 ± 0.4 b	8.0 ± 0.4 a	87.7 ± 4.5 c
		window	24.7 ± 1.9 ab	376.3 ± 12.6 a	33.3 ± 1.0 a	3.1 ± 0.1 bc	7.9 ± 0.7 a	84.7 ± 1.3 cd
		open-field	25.7 ± 3.9 a	271.4 ± 9.0 bc	25.1 ± 0.8 b	1.4 ± 0.2 fgh	6.2 ± 0.7 abc	47.4 ± 1.2 gh
'Everest' 2009	d1	blocking	11.1 ± 0.7 fg	219.5 ± 22.8 defg	25.2 ± 1.5 b	1.2 ± 0.3 h	3.4 ± 0.8 defg	42.6 ± 6.0 h
		window	17.9 ± 2.4 cd	201.6 ± 23.5 fg	21.6 ± 2.5 c	1.3 ± 0.4 gh	4.3 ± 0.1 cde	39.0 ± 4.3 h
		open-field	16.6 ± 2.0 de	229.8 ± 18.7 defg	24.7 ± 2.4 bc	1.4 ± 0.3 efg	3.0 ± 0.2 efg	40.5 ± 3.2 h
	d2	blocking	11.8 ± 2.9 f	236.5 ± 15.4 cdefg	27.6 ± 1.9 b	1.4 ± 0.1 fgh	4.0 ± 0.1 de	46.8 ± 3.0 gh
		window	19.1 ± 0.8 cd	243.8 ± 29.7 cde	27.6 ± 4.1 b	1.2 ± 0.1 h	3.6 ± 0.7 def	47.4 ± 6.2 gh
		open-field	18.3 ± 3.4 cd	240.2 ± 21.1 cdef	27.5 ± 2.4 b	1.6 ± 0.2 efg	4.9 ± 0.5 bcde	41.9 ± 2.3 h
'Elsanta' 2009	d1	blocking	1.9 ± 0.2 i	203.5 ± 10.2 efg	nd	2.1 ± 0.4 def	1.4 ± 0.7 g	61.2 ± 3.5 f
		window	5.7 ± 1.6 hi	200.6 ± 4.9 fg	nd	1.9 ± 0.2 defg	1.8 ± 0.5 fg	59.6 ± 4.9 f
		open-field	7.8 ± 0.7 gh	195.7 ± 13.3 g	nd	1.6 ± 0.2 efg	1.7 ± 0.9 fg	47.5 ± 3.9 gh
	d2	blocking	4.9 ± 0.4 hi	247.6 ± 9.8 cd	nd	4.1 ± 0.3 a	4.2 ± 0.7 cde	100.9 ± 4.0 b
		window	15.0 ± 2.7 def	292.4 ± 26.4 b	nd	4.4 ± 0.6 a	6.3 ± 1.2 abc	111.8 ± 9.2 a
		open-field	12.7 ± 1.2 ef	289.5 ± 26.5 b	nd	4.0 ± 0.5 a	5.1 ± 0.7 bcde	99.9 ± 9.0 b
Significance ^f								
treatment		**	ns	ns	ns	ns	*	
cultivar		**	**		**	**	**	**
sampling		**	*	ns	**	**	**	**
treatment × cultivar		ns	ns		ns	ns	ns	ns
treatment × sampling		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
treatment × cultivar × sampling		ns	ns		ns	ns	ns	ns

^aData are expressed as the mean ± standard deviation ($n = 3$). Means within the same column followed by different letters were significantly different at $p < 0.05$. ^bData are expressed as cyanidin 3-glucoside in micrograms per gram of fresh weight. ^cData are expressed as pelargonidin 3-glucoside in micrograms per gram of fresh weight. ^dnd = not detected. ^ens = nonsignificant. ^f*Significant at $p < 0.05$. Significant at $p < 0.01$.

effect of distribution between peel and flesh tissue. Other studies showed a decrease in phenolic acids in tomatoes when UV untreated (21).

The content of polyphenols in strawberries was increased in the external tissue except for *p*-coumaroyl glucose, agreeing with other studies (30). This observation approves the UV-protection function of flavonoids. Especially quercetins in the strawberry external tissue seem to play a key role in the context with ultraviolet radiation agreeing with other studies (18, 19, 22). The main part of total phenol content was detected in the external tissue. Thus, the occasional above-mentioned low antioxidant capacity of open-field grown fruits compared to tunnel grown fruits can be explained by the fruit weight: A higher berry size results in a lower epidermal tissue:fruit size ratio; consequently larger fruits must have lower total phenol contents than smaller fruits. Anttonen et al. (11) also described that primary fruits, which have the highest berry size, contain a lower antioxidant capacity than secondary or tertiary fruits, respectively.

Quercetins are besides kaempferols one of the major flavonols occurring in strawberries, but compared to the complex antioxidant mixture of anthocyanins, ellagitannins, proanthocyanidins or ascorbic acid the content is relatively low. That is one reason why the intense changes of quercetins by the treatments were not detected by the antioxidant assays like TEAC or ORAC. Borges et al. (31) analyzed soft fruits by HPLC-PDA with online antioxidant detection (TEAC). They showed that quercetins in raspberries did not provide antioxidant capacity and also that the contribution of quercetins detected in blackcurrant, redcurrant and cranberry was low. Recently, Ordidge et al. (23) postulated that UV radiation does not affect bioactives in soft fruits, but in this study individual components were not regarded. Hence, present quercetin derivatives in blueberries or raspberries are supposedly influenced by UV radiation, too.

The flavonoid biosynthesis pathway (32) comprehends that eriodictyol and dihydroquercetin, respectively, are precursors of quercetin and cyanidin, whereas kaempferol and pelargonidin result from naringenin and dihydrokaempferol. For this reason the main effect was found on the linked components cyanidin and quercetin derivatives. Accordingly, the expression of genes which are involved in quercetin synthesis are inducible by UV radiation. In the case of kaempferol, our assumption is that the synthesis is little affected by UV, but one part of the glycosylation because kaempferol 3-glucoside-malonate was not affected by UV radiation. Results of 2008 and other investigation (10) indicated that especially the content of kaempferol 3-glucoside-malonate could be temperature sensitive like anthocyanins. Supplementary research, which includes the responsible genes is required. Already published metabolomic (33) or proteomic (34) work during fruit ripening should be estimated with caution because the used strawberries were produced in tunnels. The "original" flavonoid biosynthesis pathway for the mentioned studies is probably affected by the absence of UV radiation. Faith et al. (33) showed the highest quercetin 3-glucuronide content through the big green stage of unripe strawberry fruits, followed by a decline until full ripeness of the fruits. It is possible that this development is not in agreement with the quercetin accumulation in open-field grown fruits. Evidence for this hypothesis in our study is provided by the first and second sampling results of cv. Elsanta: Although the plants had been covered with the film at the first sampling for a shorter time (less than three weeks) than for the second, where already small green fruits were observable, we found the same relationship for the three treatments for both sampling dates. Consequently, the major formation of quercetins has to be at a later fruit stage agreeing with other publications (35, 36).

Further investigations of individual phenolics in berries grown in tunnels are necessary, especially because the protected production

Table 5. Effects of Cultural System on Main Colorless Polyphenols^a

cultivar/year	sampling	treatment	ellagic acid after hydrolysis ^b	ellagic acid derivative ^b	<i>p</i> -coumaroyl glucose ^c	quercetin 3-glucuronide ^d	kaempferol 3-glucoside + kaempferol 3-glucuronide ^e	kaempferol 3-glucoside-malonate ^e
'Everest' 2008	T1	blocking	360 ± 35 fg	5.8 ± 0.1 def	28.8 ± 3.7 fg	6.1 ± 0.6 g	4.7 ± 0.3 ghij	3.8 ± 0.2 d
		window	415 ± 11 def	5.7 ± 1.1 defg	28.5 ± 4.7 fg	19.5 ± 0.2 e	6.0 ± 0.4 def	4.1 ± 0.4 d
		open-field	481 ± 26 cd	4.5 ± 0.3 h	40.9 ± 4.7 ab	33.9 ± 2.4 c	7.5 ± 0.8 b	2.7 ± 0.2 e
	T2	blocking	480 ± 41 cd	6.7 ± 0.5 cd	20.7 ± 1.4 h	4.8 ± 1.1 g	5.1 ± 0.2 fghi	4.5 ± 0.1 d
		window	479 ± 13 cd	6.1 ± 0.3 def	17.4 ± 0.7 h	22.3 ± 0.9 de	7.2 ± 0.3 bc	4.2 ± 0.1 d
		open-field	481 ± 26 cd	3.3 ± 0.1 i	27.7 ± 1.9 g	40.5 ± 0.9 b	10.0 ± 1.6 a	2.5 ± 0.2 e
'Everest' 2009	T1	blocking	454 ± 39 cde	5.6 ± 0.6 efgh	41.9 ± 2.1 a	3.5 ± 0.4 g	3.7 ± 0.1 j	2.5 ± 0.1 e
		window	577 ± 39 ab	6.3 ± 0.4 cde	36.2 ± 3.4 bcd	24.8 ± 3.3 d	5.9 ± 0.8 ef	2.3 ± 0.2 e
		open-field	590 ± 74 ab	5.5 ± 0.4 efgh	34.6 ± 3.0 cde	24.1 ± 1.7 d	6.1 ± 0.4 def	2.3 ± 0.1 e
	T2	blocking	536 ± 48 abc	5.1 ± 1.0 fgh	37.1 ± 1.0 abcd	5.2 ± 0.8 g	4.2 ± 0.4 ij	2.4 ± 0.3 e
		window	520 ± 84 bc	6.1 ± 0.6 def	37.7 ± 4.4 abc	26.1 ± 3.5 d	6.1 ± 0.5 def	2.5 ± 0.2 e
		open-field	532 ± 20 abc	4.6 ± 0.8 gh	38.7 ± 2.7 abc	34.6 ± 2.1 c	7.6 ± 0.9 b	2.3 ± 0.2 e
'Elsanta' 2009	T1	blocking	427 ± 50 def	3.2 ± 0.1 i	31.8 ± 1.2 defg	10.3 ± 1.4 f	4.5 ± 0.2 hij	6.8 ± 0.4 ab
		window	383 ± 32 efg	3.3 ± 0.9 i	30.5 ± 0.5 efg	41.0 ± 0.7 b	5.4 ± 0.1 efg	5.9 ± 0.2 c
		open-field	313 ± 12 g	3.0 ± 0.2 i	27.4 ± 1.6 g	48.8 ± 2.0 a	5.7 ± 0.3 efg	5.8 ± 0.3 c
	T2	blocking	425 ± 30 def	8.0 ± 0.2 ab	33.3 ± 1.6 cdef	11.0 ± 1.7 f	5.1 ± 0.1 fghi	6.9 ± 0.4 ab
		window	603 ± 71 a	8.7 ± 0.6 a	30.4 ± 1.6 efg	45.3 ± 1.7 a	7.0 ± 0.6 bcd	7.2 ± 0.2 a
		open-field	415 ± 45 def	7.3 ± 1.0 bc	30.6 ± 1.0 efg	40.4 ± 4.6 b	6.4 ± 0.3 cde	6.5 ± 0.2 b
Significance ^f								
treatment		*	**	ns	**	**	**	**
cultivar		**	ns	ns	**	*	**	**
sampling		*	**	ns	ns	**	**	ns
treatment × cultivar		**	ns	ns	**	**	**	ns
treatment × sampling		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
treatment × cultivar × sampling		*	ns	ns	**	ns	ns	ns

^aData are expressed as the mean ± standard deviation ($n = 3$). Means within the same column followed by different letters were significantly different at $p < 0.05$. ^bData are expressed as ellagic acid equivalents in micrograms per gram of fresh weight. ^cData are expressed as coumaric acid in micrograms per gram of fresh weight. ^dData are expressed as quercetin 3-glucuronide in micrograms per gram of fresh weight. ^eData are expressed as kaempferol 3-glucuronide in micrograms per gram of fresh weight. ^fns = nonsignificant. *Significant at $p < 0.05$. **Significant at $p < 0.01$.

Table 6. Distribution of Polyphenols in Strawberry Flesh and Peel^a

tissue	treatment	ellagic acid after hydrolysis ^b	ellagic acid derivative ^b	<i>p</i> -coumaroyl glucose ^c	quercetin 3-glucuronide ^d	kaempferol 3-glucoside + kaempferol 3-glucuronide ^e	kaempferol 3-glucoside-malonate ^e	total phenols ^f
flesh	blocking	241 ± 22 a	2.3 ± 0.6 c	55.6 ± 2.0 a	2.5 ± 0.6 d	1.7 ± 0.1 d	1.9 ± 0.1 c	2248 ± 217 b
	window	292 ± 35 a	2.1 ± 0.2 c	49.6 ± 1.4 a	2.4 ± 0.2 d	1.9 ± 0.2 d	1.6 ± 0.2 c	2205 ± 55 b
	open-field	318 ± 15 a	2.1 ± 0.7 c	51.2 ± 2.9 a	7.7 ± 1.0 cd	2.2 ± 0.1 d	1.6 ± 0.2 c	2329 ± 121 b
peel	blocking	680 ± 65 b	9.3 ± 1.7 a	54.0 ± 2.8 a	10 ± 1.9 c	4.7 ± 0.3 c	3.6 ± 0.4 a	3865 ± 242 a
	window	677 ± 133 b	6.8 ± 0.6 b	39.9 ± 3.8 b	35.9 ± 2.5 b	6.8 ± 0.7 b	2.5 ± 0.4 b	3899 ± 262 a
	open-field	683 ± 10 b	6.7 ± 0.2 b	40.7 ± 5.0 b	55.2 ± 7.3 a	8.5 ± 1.0 a	2.8 ± 0.1 b	3748 ± 123 a
Significance ^g								
treatment	ns	*	*	**	**	**	**	ns
tissue	**	**	**	**	**	**	**	**
treatment × tissue	ns	*	ns	**	**	**	*	ns

^aData are expressed as the mean ± standard deviation ($n = 3$). Means within the same column followed by different letters were significantly different at $p < 0.05$. ^bData are expressed as ellagic acid equivalents in milligrams per 100 grams of dry weight. ^cData are expressed as coumaric acid in milligrams per 100 grams of dry weight. ^dData are expressed as quercetin 3-glucuronide in milligrams per 100 grams of dry weight. ^eData are expressed as kaempferol 3-glucuronide in milligrams per 100 grams of dry weight. ^fData are expressed as GAE in milligrams per 100 grams of dry weight. ^gns = nonsignificant. *Significant at $p < 0.05$. **Significant at $p < 0.01$.

of soft fruits is increasing and fruits do not react like leafy vegetables, e.g., lettuce, or other crops like apple or tomato.

The reduced content of quercetin 3-glucuronide of UV-untreated strawberries could impair the nutritional value of the fruits regarding that this flavonol has putative health effects (37). Quercetin is one of the most predominant flavonols occurring ubiquitously in fruits and vegetables. The most famous source for quercetins is onions, with a content of 284–486 μg of quercetin per g fresh weight (38) and accordingly more than 10-fold higher than in strawberries grown under open-field conditions. In Germany, the per capita consumption of onions per year was in 2008 around 7.1 kg and that of strawberries 3.3 kg. The

strawberry is a seasonal fruit whereas onions are consumed constantly all over the year. Even in this short season strawberry consumption is only 2-fold higher compared to onions (39, 40). Regarding this information the quercetin content in strawberries compared to onions seems to be less important. However, the only benefit of strawberries is that the main occurrence of this flavonol is quercetin 3-glucuronide as quercetin is present in plasma (41). Quercetins are available in onions only as glucosides, which could be a disadvantage in bioavailability.

Considering the agronomical and quality parameters, temperature effects covered possible UV effects. Tunnel-grown plants tended to lower yields for the same harvest period (Table 1),

Article

Table 7. Distribution of Anthocyanins in Strawberry Flesh and Peel^a

tissue/treatment	cyanidin 3-glucoside ^b	pelargonidin 3-glucoside ^c	pelargonidin 3-rutinoside ^c	pelargonidin derivative ^c	cyanidin 3-glucoside-malonate ^b	pelargonidin 3-glucoside-malonate ^c
flesh blocking	2.6 ± 0.5 c	164.2 ± 6.8 c	14.4 ± 0.8 c	0.6 ± 0.1 b	1.8 ± 0.3 b	40.8 ± 1.5 d
window	3.5 ± 0.1 c	141.0 ± 13.9 c	13.8 ± 0.9 c	0.4 ± 0.1 b	1.6 ± 0.2 b	34.7 ± 3.6 d
open-field	3.1 ± 0.7 c	148.1 ± 13.5 c	16.0 ± 0.9 c	0.5 ± 0.2 b	1.5 ± 0.2 b	35.7 ± 3.9 d
peel blocking	20.1 ± 1.1 b	310.8 ± 16.1 a	31.5 ± 2.5 a	1.1 ± 0.4 a	7.5 ± 1.0 a	69.8 ± 3.6 a
window	24.0 ± 3.4 ab	252.4 ± 21.9 b	24.3 ± 1.3 b	1.2 ± 0.1 a	8.5 ± 1.3 a	53.1 ± 4.8 c
open-field	26.6 ± 4.9 a	302.7 ± 10.4 a	31.5 ± 2.2 a	1.3 ± 0.3 a	7.8 ± 1.2 a	60.3 ± 1.7 b
	Significance ^d					
treatment	ns	**	**	ns	ns	**
tissue	**	**	**	**	**	**
treatment × tissue	ns	ns	**	ns	ns	ns

^aData are expressed as the mean ± standard deviation ($n = 3$). Means within the same column followed by different letters were significantly different at $p < 0.05$. ^bData are expressed as cyanidin 3-glucoside in milligrams per 100 grams of dry weight. ^cData are expressed as pelargonidin 3-glucoside in milligrams per 100 grams of dry weight. ^dns = nonsignificant, ** significant at $p < 0.01$.

which may be an effect of temperature (42). However, protected cultivation can extend the season, which resulted particularly for ever-bearer in higher total yields as shown in 2008. Higher temperature decreases the average fruit weight, but cv. Elsanta showed only marginal reduction by mean temperatures higher than 20 °C (42). During this trial the temperature outside was on average 20 °C, and 1 °C higher under the standard film, not affecting the fruit size of cv. Elsanta Elsanta but of cv. Everest (Table 1). The ever-bearer cultivar seemed to be more temperature sensitive; lower fruit weights of tunnel-grown strawberries were observed in both experimental years. The window film inclined to slightly higher temperatures. However, no significant effects were observed by application of the window film for single leaf area, total leaf area per plant, yield or mean fruit weight compared to the blocking film (Table 1), although lettuce decreased leaf area with UV radiation (18). The plant performance of strawberries seems to be mainly UV unresponsive and more temperature dependent. Over all sampling dates, the open-field fruits had the highest average fruit weight (Table 2).

For most parameters, the sampling dates had a stronger impact on the fruits than the treatment. In principle, one should bear in mind that the growth stage of field-grown plants is delayed to that of tunnel-grown plants; consequently the comparability of the fruits on the same sampling date is only restrictedly possible. Generally, the treatments did not differ in quality parameters like titratable acidity, SSC or dry matter and consequently the irrigation in the tunnel was not deficit.

In summary, we could estimate losses of several flavonols in the absence of UV radiation by the use of standard UVB blocking films in strawberry fruits, although open-field grown strawberries are delayed compared to tunnel-grown fruits and the sampling date strongly affects the content of bioactives. The main observations caused by UV radiation were not cultivar dependent. The deficits can be partially avoided by the application of UVB transparent films. Most bioactives, which contribute to the antioxidant capacity, were not affected by UV radiation. In our study we could not provide any disadvantages of the use of UV transparent films in plant performance or yield compared to standard blocking films.

ACKNOWLEDGMENT

The authors appreciate Gerhard Müller and collaborators for excellent coordination and assistance of the field experiments, Gerold Schmidt for temperature and PAR measurements and Anna Gresch and Jeannette Zacharias for analytical support.

LITERATURE CITED

- Seeram, N. P. Berry fruits for cancer prevention: Current status and future prospects. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 630–635.
- Zafra-Stone, S.; Taharat, Y.; Bagchi, M.; Chatterjee, A.; Vinson, J. A.; Bagchi, D. Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. *Mol. Nutr. Food Res.* **2007**, *51*, 675–683.
- Meyers, K. J.; Watkins, C. B.; Pritts, M. P.; Liu, R. H. Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 6887–6892.
- Aaby, K.; Ekeberg, D.; Skrede, G. Characterization of phenolic compounds in strawberry (*Fragaria × ananassa*) fruits by different HPLC detectors and contribution of individual compounds to total antioxidant capacity. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 4395–4406.
- Buendia, B.; Gil, M. I.; Tudela, J. A.; Gady, A. L.; Medina, J. J.; Soria, C.; López, J. M.; Tomás-Barberán, F. A. HPLC-MS analysis of proanthocyanidin oligomers and other phenolics in 15 strawberry cultivars. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 3916–3926.
- Tulipani, S.; Mezzetti, B.; Capocasa, F.; Bompadre, S.; Beekwilder, J.; de Vos, C. H. R.; Capanoglu, E.; Bovy, A. G.; Battino, M. Antioxidants, phenolic compounds, and nutritional quality of different strawberry genotypes. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 696–704.
- Crespo, P.; Bordonaba, J. G.; Terry, L. A.; Carlen, C. Characterisation of major taste and health-related compounds of four strawberry genotypes grown at different Swiss production sites. *Food Chem.* **2010**, *122*, 16–24.
- Keutgen, A. J.; Pawelzik, E. Quality and nutritional value of strawberry fruit under long term salt stress. *Food Chem.* **2008**, *107*, 1413–1420.
- Terry, L. A.; Choje, G. A.; Bordonaba, J. G. Effect of water deficit irrigation and inoculation with *Botrytis cinerea* on strawberry (*Fragaria × ananassa*) fruit quality. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 10812–10819.
- Wang, S. Y.; Zheng, W. Effect of plant growth temperature on antioxidant capacity in strawberry. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 4977–4982.
- Anttonen, M. J.; Hoppula, K. I.; Nestby, R.; Verheul, M. J.; Karjalainen, R. O. Influence of fertilization, mulch color, early forcing, fruit order, planting date, shading, growing environment, and genotype on the contents of selected phenolics in strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) fruits. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 2614–2620.
- Atkinson, C. J.; Dodds, P. A. A.; Ford, Y. Y.; Le Miere, J.; Taylor, J. M.; Blake, P. S.; Paul, N. Effects of cultivar, fruit number and reflected photosynthetically active radiation on *Fragaria × ananassa* productivity and fruit ellagic acid and ascorbic acid concentrations. *Ann. Bot.* **2006**, *97*, 429–441.
- Wang, S. Y.; Millner, P. Effect of different cultural systems on antioxidant capacity, phenolic content, and fruit quality of strawberries (*Fragaria × ananassa* Duch.). *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *57*, 9651–9657.

- 12702 *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 58, No. 24, 2010
- (14) Lieten, P. Strawberry production in central Europe. *Int. J. Fruit Sci.* **2006**, *5*, 91–105.
- (15) Daugovish, O.; Larson, K. D. Strawberry production with protected culture in southern California. *Acta Hort.* **2009**, *842*, 163–166.
- (16) Krizek, D. T.; Clark, H. D.; Mirecki, R. M. Spectral properties of selected UV-blocking and UV-transmitting covering materials with application for production of high-value crops in high tunnels. *Photochem. Photobiol.* **2005**, *81*, 1047–1051.
- (17) Shirley, B. W. Flavonoid biosynthesis: 'new' functions for an 'old' pathway. *Trends Plant Sci.* **1996**, *1*, 377–382.
- (18) Tsormpatsidis, E.; Henbest, R. G. C.; Davis, F. J.; Battey, N. H.; Hadley, P.; Wagstaffe, A. UV irradiance as a major influence on growth, development and secondary products of commercial importance in Lollo Rosso lettuce 'Revolution' grown under polyethylene films. *Environ. Exp. Bot.* **2008**, *63*, 232–239.
- (19) Garcia-Macias, P.; Ordidge, M.; Vysini, E.; Waroonphan, S.; Battey, N. H.; Gordon, M. H.; Hadley, P.; John, P.; Lovegove, J. A.; Wagstaffe, A. Changes in the flavonoid and phenolic acid contents and antioxidant activity of red leaf lettuce (Lollo Rosso) due to cultivation under plastic films varying in ultraviolet transparency. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 10168–10172.
- (20) Kolb, C. A.; Kopecký, J.; Riederer, M.; Pfündel, E. E. UV screening by phenolics in berries of grapevine (*Vitis vinifera*). *Funct. Plant Biol.* **2003**, *30*, 1177–1186.
- (21) Luthria, D. L.; Mukhopadhyay, S.; Krizek, D. T. Content of total phenolics and phenolic acids in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruits as influenced by cultivar and solar UV radiation. *J. Food Compos. Anal.* **2006**, *19*, 771–777.
- (22) Solovchenko, A.; Schmitz-Eiberger, M. Significance of skin flavonoids for UV-B-protection in apple fruits. *J. Exp. Bot.* **2003**, *54*, 1977–1984.
- (23) Ordidge, M.; Garcia-Macias, P.; Battey, N. H.; Gordon, M. H.; Hadley, P.; John, P.; Lovegove, J. A.; Vysini, E.; Wagstaffe, A. Phenolic contents of lettuce, strawberry, raspberry, and blueberry crops cultivated under plastic films varying in ultraviolet transparency. *Food Chem.* **2010**, *119*, 1224–1227.
- (24) Hartmann, A.; Patz, C. D.; Andlauer, W.; Dietrich, H.; Ludwig, M. Influence of processing on quality parameters of strawberries. *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 9484–9489.
- (25) Giusti, M. M.; Wrolstad, R. E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*; Wrolstad, R. E., Acree, T. E., An, H., Decker, E. A., Penner, M. H., Reid, D. S., Schwartz, S. J., Shoemaker, C. F., Sporns, P., Eds.; John Wiley & Sons, Inc.: New York, 2001; p 1.
- (26) Singleton, V. L.; Orthofer, R.; Lamuela-Raventós, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. In *Methods in Enzymology Oxidants and Antioxidants Part A*; Lester, P., Ed.; Academic Press: 1999; Vol. 299, pp 152–178.
- (27) Ou, B.; Hampsch-Woodill, M.; Prior, R. L. R. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 4619–4626.
- (28) Häkkinen, S. H.; Mykkanen, H. M.; Heinonen, I. M.; Törrönen, A. R. Ellagic acid content in berries: Influence of domestic processing and storage. *Eur. Food Res. Technol.* **2000**, *212*, 75–80.
- (29) Ubi, B. E.; Honda, C.; Bessho, H.; Kondo, S.; Wada, M.; Kobayashi, S.; Moriguchi, T. Expression analysis of anthocyanin biosynthetic genes in apple skin: Effect of UV-B and temperature. *Plant Sci.* **2006**, *170*, 571–578.
- (30) Gil, M. I.; Holcroft, D. M.; Kader, A. A. Changes in strawberry anthocyanins and other polyphenols in response to carbon dioxide treatments. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 1662–1667.
- (31) Borges, G.; Degeneve, A.; Mullen, W.; Crozier, A. Identification of flavonoid and phenolic antioxidants in black currants, blueberries, raspberries, red currants, and cranberries. *J. Agric. Food Chem.* **2009**, *58*, 3901–3909.
- (32) Almeida, J. R. M.; D'Amico, E.; Preuss, A.; Carbone, F.; de Vos, C. H. R.; Deiml, B.; Mourgues, F.; Perrotta, G.; Fischer, T. C.; Bovy, A. G.; Martens, S.; Rosati, C. Characterization of major enzymes and genes involved in flavonoid and proanthocyanidin biosynthesis during fruit development in strawberry (*Fragaria × ananassa*). *Arch. Biochem. Biophys.* **2007**, *465*, 61–71.
- (33) Fait, A.; Hanhineva, K.; Beleggia, R.; Dai, N.; Rogachev, I.; Nikiforova, V. J.; Fernie, A. R.; Aharoni, A. Reconfiguration of the Achene and Receptacle Metabolic Networks during Strawberry Fruit Development. *Plant Physiol.* **2008**, *148*, 730–750.
- (34) Bianco, L.; Lopez, L.; Scalone, A. G.; Di Carli, M.; Desiderio, A.; Benvenuto, E.; Perrotta, G. Strawberry proteome characterization and its regulation during fruit ripening and in different genotypes. *J. Proteomics* **2009**, *72*, 586–607.
- (35) Wulf, J. S.; Rühmann, S.; Rego, I.; Puhl, I.; Treutter, D.; Zude, M. Nondestructive application of laser-induced fluorescence spectroscopy for quantitative analyses of phenolic compounds in strawberry fruits (*Fragaria × ananassa*). *J. Agric. Food Chem.* **2008**, *56*, 2875–2882.
- (36) Halbwirth, H.; Puhl, I.; Haas, U.; Jezik, K.; Treutter, D.; Stich, K. Two-phase flavonoid formation in developing strawberry (*Fragaria × ananassa*) fruit. *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 1479–1485.
- (37) Boots, A. W.; Haenen, G. R. M. M.; Bast, A. Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. *Eur. J. Pharmacol.* **2008**, *585*, 325–337.
- (38) Nemeth, K.; Piskula, M. K. Food content, processing, absorption and metabolism of onion flavonoids. *Crit. Rev. Food Sci.* **2007**, *47*, 397–409.
- (39) Behr, H.-P. *AMI-Marktbilanz Gemüse 2010: Daten, Fakten, Entwicklungen, Deutschland, EU, Welt*, 2010.
- (40) Würtenberger, E.; Schockemöhle, U. *AMI-Marktbilanz Obst 2010: Daten, Fakten, Entwicklungen, Deutschland, EU, Welt*, 2010.
- (41) Wittig, J.; Herderich, M.; Graefe, E. U.; Veit, M. Identification of quercetin glucuronides in human plasma by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr., B* **2001**, *753*, 237–243.
- (42) Le Mière, J.; Hadley, P.; Darby, J.; Battey, N. H. The effect of thermal environment, planting date and crown size on growth, development and yield of *Fragaria × ananassa* Duch. cv. Elsanta. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* **1998**, *73*, 786–795.

Received for review July 28, 2010. Revised manuscript received October 22, 2010. Accepted October 22, 2010. We thank Stiftung Gisela for financial assistance.

10

Bewertung, Fazit & Ausblick

10.1 Zentrale Ergebnisse der Zielsetzung

Die Ergebnisse der in der Einführung vorgestellten Ziele bezüglich wertgebender Inhaltsstoffe der Erdbeere können wie folgt zusammengefasst werden:

- *Optimierung der Anwendung von Messmethoden zur Bestimmung von antioxidativ wirksamen Inhaltsstoffen (Kapitel 3.5)*

Die Implementierung der ORAC-Methode sowie die Vereinfachung der Methoden für Gesamtphenole und TEAC wurden im Rahmen dieser Arbeit erfolgreich etabliert. Dadurch konnten im Wesentlichen die Analysenzeit und -kosten minimiert werden. Im Rahmen dieser Arbeit zeigten sich aber auch die Grenzen dieser Methoden. Bestimmte Veränderungen hinsichtlich der Zusammensetzung bioaktiver Substanzen wie z. B. der Quercetin-Gehalt bei der Untersuchung von UV-B-Strahlung konnten mit diesen Testmethoden nicht immer erfasst werden.

- *Untersuchungen zum Einfluss von Temperatureffekten auf wertgebende Fruchtinhaltsstoffe der Erdbeere unter Gewächshausbedingungen (Kapitel 4)*

Vitamin C wurde unter kühleren Bedingungen (Tag/Nacht: 16 °C/12 °C) verstärkt gebildet. Höhere Temperaturen (Tag/Nacht: 22 °C/16 °C) hingegen beeinflussten die Biosynthese von Anthocyanen, Kämpferol-3-malonylglucosid, Proanthocyanidinen und Ellagttanninen und die damit verbundene antioxidative Kapazität in Erdbeeren positiv. Eine zusätzliche Erhöhung der Bodentemperatur auf 26 °C während des Tages steigerte den Gehalt von *p*-Cumaroyl-Glucose um 19 %. Die Übertragbarkeit dieser Ergebnisse auf die Freilandversuche wird im nächsten Abschnitt diskutiert.

- *Charakterisierung konventioneller und ernährungsrelevanter Qualitätsmerkmale der Erdbeerfrucht unter unterschiedlichen Umgebungsbedingungen (Kapitel 5 bis 7)*

Klimaunterschiede sowie der Saisonverlauf beeinflussten die Zusammensetzung der bioaktiven Substanzen wesentlich. Dabei konnte bestätigt werden, dass hohe Temperaturen die Synthese von Anthocyanen verstärkten. Vor allem für den Klimaversuch (Kapitel 6) wurde eine wesentliche Veränderung bei Ellagttanninen und Proanthocyanidinen beobachtet. Ausgewählte Proben wurden zur Abtrennung der tanninischen Substanzen mit Hilfe von Sephadex LH-20 extrahiert und massenspektrometrisch untersucht. Unterschiede in der Zusammensetzung der Ellagttannine wurden detektiert, doch konnte die Ursache dafür größtenteils nicht evaluiert werden. Darüber hinaus konnte herausgestellt werden, dass der Genotyp der relevanteste „Basis“-Faktor für bioaktive Inhaltsstoffe ist.

- *Einflussnahme ausgewählter Kultivierungstechniken auf konventionelle und ernährungsrelevante Qualitätsmerkmale der Erdbeerfrucht*

A. Einfluss von Bodenbedeckungsmaßnahmen (Kapitel 8)

Durch den Einsatz von Mulchfolie konnten bioaktive Substanzen in Erdbeeren gesteigert werden. Vor allem durch die Kombination schwarze Mulchfolie und Dammanbau ergaben sich im Vergleich zu Früchten, die auf konventionelle Art direkt im gewachsenen Boden kultiviert wurden signifikante Steigerungen an Quercetin, Kämpferol und einzelnen Anthocyanen. Zusätzlich wurde die antioxidative Kapazität um bis zu 30 % gesteigert.

B. Einfluss des geschützten Anbaus unter Verwendung unterschiedlicher UV-B durchlässiger Folien (Kapitel 9)

Die Synthese von Quercetin-3-glucuronid, Kämpferol-3-glucosid und Cyanidin-3-glucosid wurde durch fehlende UV-B-Strahlung wesentlich beeinträchtigt. Die Bildung der weiteren untersuchten Flavonoide, Anthocyane und der antioxidativen Kapazität sowie des Vitamins C war hingegen UV-B-unabhängig.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit werden im Folgenden einander gegenübergestellt und abschließend diskutiert.

10.2 Gegenüberstellung der Ergebnisse und Abschlussdiskussion

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Untersuchungen durchgeführt, um Vorerntefaktoren auf die Bildung von wertgebenden Fruchthaltsstoffen der Erdbeere zu evaluieren. Die Versuche gliederten sich hierbei in Untersuchungen mit klimatischem Hintergrund (Kapitel 4 bis 7) sowie kulturtechnische Untersuchungen (Kapitel 8 & 9), in denen anthropogen gezielt eingegriffen wurde, eingeteilt werden. In beiden Versuchsgruppen konnte die Wirksamkeit der betreffenden Einflussfaktoren auf bioaktive Substanzen nachgewiesen werden. Dies wird auch bei der versuchsübergreifenden Gegenüberstellung der Ergebnisse in Tab. 10.1 am Beispiel der Sorte 'Elsanta' deutlich. Eine kürzlich publizierte Studie von Pince-mail et al. [209] belegte ebenso, dass bei saisonalen und kulturellen Variationen an der Sorte 'Elsanta' sekundäre Inhaltsstoffe stark beeinflusst werden. Der zentrale Einflussfaktor ist jedoch, wie durch viele andere Studien bestätigt wurde, der Genotyp [45, 73, 122, 209, 233, 308]. Durch multivariate Statistik konnte diese Feststellung auch durch die in dieser Arbeit erzielten Ergebnisse abgesichert (vgl. Kapitel 6) werden [295]. Der Sortenvergleich von 'Elsanta' und 'Korona' an den Standorten Norwegen und Deutschland belegte weiterhin, dass verschiedene Genotypen in der Regel ähnlich reagieren (vgl. Kapi-

tel 6). Dies zeigte u. a. der Vergleich der Vitamin C -, Gesamtphenol- und Anthocyan-gehalte der Früchte, die bei allen drei untersuchten Sorten am Standort Deutschland gegenüber Norwegen erhöht (Anthocyane) bzw. verringert (Gesamtphenole, Vitamin C) waren. Dennoch ist festzuhalten, dass die untersuchten Sorten unterschiedlich sensitiv waren (vgl. Kapitel 6), was auch andere Studien an Erdbeeren zum Thema Salzstress [148, 237], Bioanbau [77], Anwendung von verschiedenen Mulchfolien [87] oder Untersuchungen zu Jahreseinflüssen [91] bestätigten.

Tab. 10.1:
Gegenüberstellung ausgewählter Ergebnisse unterschiedlicher Versuche unter Verwendung von verschiedenem Pflanzmaterial am Beispiel der Sorte 'Elsanta'.

	Traypflanzen, Gewächshaus (Glas), Standort Geisenheim (Kapitel 4)	Frigo A+ Pflanzen, Folienhaus, Standort: Geisenheim (Kapitel 9)	Grünpflanzen,F reiland, Standort: Geisenheim (Kapitel 8)	Frigo A+ Pflanzen, Freiland, Standort: Geisenheim (Kapitel 9)	Grün-pflanzen, Freiland, Standort: Nordeuropa# (Kapitel 6)
Erntezeitpunkt	Januar 2010	Juli 2009	Mai/Juni 2008/2009	Juli 2009	Juni/Juli 2008/2009
Lösliche Trockenmasse (°Brix)	6,4 c	9,4 ab	7,1 b	8,7 b	9,6 a
Trockenmasse (%)	8,4 b	11,5 a	8,8 b	10,7 a	11,2 a
Gesamtsäure (%)	0,92 a	0,74 b	0,73 b	0,75 b	0,90 b
Vitamin C ($\mu\text{g g}^{-1}$)	821 ab	833 ab	798 b	881 a	800 b
Gesamtphenole ($\mu\text{g g}^{-1}$)	1592 d	2291 b	2039 c	2124 bc	2604 a
Gesamtanthocyane ($\mu\text{g g}^{-1}$)	537 a	450 ab	408 b	442 b	278 c
EA nach Hydrolyse ($\mu\text{g g}^{-1}$)	254 c	460 ab	404 b	369 b	506 a
PAC ($\mu\text{g g}^{-1}$)	211 c	-	274 b	-	358 a
<i>p</i> -CUM GLU ($\mu\text{g g}^{-1}$)	10,3 c	31,5 a	18,0 b	29,0 a	21,6 b
QUER 3-GLC ($\mu\text{g g}^{-1}$)	7,6 d	10,65 c (Standard) 43,15 a (UV-B Folie)	28,2 b	44,6 a	29,4 b
KAE 3-GLU ($\mu\text{g g}^{-1}$)	6,1 ab	5,5 ab	6,6 a	6,1 ab	5,6 b
KAE 3-MAL-GLU ($\mu\text{g g}^{-1}$)	12,5 a	6,7 b	6,7 b	6,2 b	4,2 b

#Mittelwerte der Standorte Kopenhagen (Dänemark) und Stjørdal (Norwegen). Abkürzungen: Proanthocyanidine (PAC), Ellagsäure (EA), *p*-Cumaroyl-Glucose (*p*-CUM GLU), Quercetin-3-*O*-glucuronid (QUER-3-GLU), Kämpferol-3-*O*-malonylglicosid (KAE-3-GLU-MAL), Kämpferol-3-*O*-glucosid einschließlich Kämpferol-3-*O*-glucuronid (KAE-3-GLU).

Saison- und standortbedingte Variationen

Saisonale Untersuchungen an der remontierenden Sorte (vgl. Kapitel 5) konnten zeigen, dass die Summe der mengenmäßig wichtigsten bioaktiven Inhaltsstoffe der Erdbeere wie Anthocyane, Vitamin C, Ellagtannine und Proanthocyanidine eine hohe Konstanz aufwies und im Mittel $1807 \mu\text{g g}^{-1}$ FG betrug. Dies steht im Einklang mit einer Studie von Griesser et al. [108], die durch Silencing der Glucosyltransferase eine Verringerung der Anthocyan-gehalte und eine gleichzeitige Erhöhung der Flavan-3-ol-Gehalte feststellten. Ebenso zeigten die untersuchten einmaltragenden Sorten unabhängig vom Standort vergleichbare Gehalte an Anthocyanen, Ellagtanninen, Proanthocyanidinen und Vitamin C (vgl. Kapitel 6). Die Summe dieser Gehalte betrug jeweils, bezogen auf das FG für 'Clery' $1907 \mu\text{g g}^{-1}$,

für 'Korona' $1811 \mu\text{g g}^{-1}$ und für 'Elsanta' $1917 \mu\text{g g}^{-1}$, wobei alle Anbaustandorte der vorliegenden Studie einbezogen wurden. Dennoch wurden deutliche Unterschiede bei einzelnen Substanzen festgestellt.

Die Ergebnisspannweite einzelner bioaktiver Inhaltsstoffe in Erdbeeren vergrößerte sich mit der Anzahl an Standorten in Europa an denen diese produziert wurden (vgl. Kapitel 6) [295]. Am meisten variierten die untersuchten Parameter für die Sorte 'Elsanta' (Standorte: Schweiz, Deutschland, Dänemark, Norwegen), wobei 1,3-fache bis 7,3-fache Schwankungen beobachtet werden konnten. Bei der Sorte 'Korona', die an drei Standorten (Deutschland, Dänemark, Norwegen) kultiviert wurde, variierten die Gehalte um das 1,3- bis 4,0-Fache. Die Ergebnisse hinsichtlich der Sorte 'Clery', die an zwei Standorten (Schweiz, Deutschland) angebaut wurde, schwankten zwischen 1,1-fach und 2,8-fach.

Bedingt durch den jeweils unterschiedlichen Breitengrad herrschten ungleiche Klima- und damit auch Wachstumsbedingungen, die einen Einfluss auf die Gehalte der bioaktiven Inhaltsstoffe ausübten (vgl. Kapitel 6). Da wegen der Versuchsstandorte starke klimatische Unterschiede zu jeder Jahreszeit bestanden, war es schwierig, einen Zeitpunkt der Einflussnahme zu fixieren. Weiterhin ändern sich gleichzeitig verschiedene Umweltfaktoren wie Temperatur, Bodenbeschaffenheit, Niederschlag, Tageslänge und photosynthetisch aktive Strahlung (PAR). Dadurch sind synergistische oder suppressive Effekte auf die Pflanzenbiosynthese möglich [53, 168]. Bereits das Wachstum der Pflanzen, der Beginn der Ernte und die Fruchtgröße wurden wesentlich durch die Anbauregion gelenkt [309].

Wesentliche Unterschiede zwischen Früchten der Anbauregionen bestanden in ihren Gehalten an tanninischen Inhaltsstoffen (vgl. Kapitel 6). Bei ausgewählten Proben wurden nicht nur die Summenparameter untersucht, sondern auch, ob in der Tanninzusammensetzung strukturelle Unterschiede bestanden (vgl. Kapitel 7). Zum einen konnte gezeigt werden, dass das PAC/ Ellagtannin-Verhältnis je nach Sorte und Anbaustandort unterschiedlich war [310]. Zum anderen unterschieden sich die Ellagtannine sowohl in der Zusammensetzung als auch den Gehalten je nach Genotyp und Anbaustandort. Weil die Ellagtannine hauptsächlich in den Achänen und in deutlich geringeren Mengen im verdickten Blütenboden zu finden sind [94, 184, 311], konnten die Ursachen für dieses Ergebnis nicht direkt geklärt werden. Unklar ist z. B., ob die Ellagtannine der Achänen vollständig oder nur oberflächlich erfasst wurden. Weiterhin wurde der Anteil der Nüsschen pro Frucht, der das Ergebnis maßgeblich beeinflusst, für die Untersuchung nicht berücksichtigt.

Temperatureinfluss unter Berücksichtigung von GWH- und Freilandversuchen

Die Ergebnisse des Temperaturversuches (2009/2010) im Gewächshaus an der Sorte 'Elsanta' (vgl. Kapitel 4) sollten die Auswertung und Interpretation der Daten des Klimaversuches (vgl. Kapitel 6) bzw. des Versuches zur Untersuchung des Saisonverlaufes (vgl. Kapitel 5) unterstützen und Aufschluss über mögliche Temperatureinflüsse geben. Während des Gewächshausversuches (vgl. Kapitel 4) zeigten Früchte, die unter kühleren Wachstumsbedingungen (Tag/Nacht: 16 °C/12 °C) herangereift waren, geringere Gehalte an Ellagtanninen (bestimmt als Ellagsäure nach der Hydrolyse) als Früchte, die der wärmeren Behandlung (Tag/Nacht: 22 °C/16 °C) unterzogen wurden [166]. Ebenso zeigten die Ergebnisse bezüglich der remontierenden Sorte, dass die Gehalte an Ellagtanninen während der Saison tendenziell abnahmen (vgl. Kapitel 5), was eine Temperaturabhängigkeit bestätigen könnte. Sowohl beim Freilandsaisonversuch (vgl. Kapitel 5) als auch beim Gewächshausversuch (vgl. Kapitel 4) veränderte sich das mittlere Fruchtgewicht. Beim Saisonversuch verringerte sich das Fruchtgewicht während des Versuchsverlaufs, so dass theoretisch eine höhere Anzahl Achänen pro g Gesamtfrucht vorhanden war. Im Gewächshaus (vgl. Kapitel 4) konnte unter kühleren Bedingungen hingegen ein höheres Fruchtgewicht nachgewiesen werden [166]. Wird das Ellagtannin-Ergebnis des Gewächshausversuches auf das durchschnittliche Gesamtfruchtgewicht (vgl. Kapitel 4, Table II) bezogen und nicht auf die Bezugsgröße Frischgewicht, sind die Gehalte bei allen drei Varianten vergleichbar. So enthielten die Früchte der kühleren Variante 2,7 mg Ellagtannin pro Frucht, die Früchte der wärmeren Variante 2,8 mg und die Früchte, die unter Erhöhung der Bodentemperatur auf 26 °C heranreiften 2,6 mg Ellagtannin pro Frucht. Eine Temperaturabhängigkeit der Ellagtannine kann auf dieser Basis nicht bestätigt werden.

Der Klimaversuch ergab, dass in Früchten der nördlicheren Regionen die PAC-Gehalte höher waren als in jenen der südlicheren Standorte (vgl. Kapitel 6 & 7). Dieses Ergebnis wurde durch massenspektrometrische Untersuchungen und die Erfassung einzelner Substanzgruppen nur z. T. bestätigt (vgl. Kapitel 7). Im Gegensatz zu den hydrolysierbaren Tanninen variierten die PAC-Werte hauptsächlich in den absoluten Gehalten und nicht in ihrer Zusammensetzung. Allerdings erhöhten sich die Gehalte an PAC bei kühleren Temperaturen nicht (vgl. Kapitel 4), so dass eine generelle Schlussfolgerung hinsichtlich des Einflusses der Temperatur auf die Biosynthese von PAC nicht möglich ist [166]. Interessant ist in diesem Zusammenhang, auch die PAC-Gehalte auf das durchschnittliche Gesamtfruchtgewicht zu beziehen. Dann ergibt sich, dass die Früchte der kühleren Variante 27,3 mg PAC pro Frucht und jene der wärmeren Variante 24,4 mg enthielten. Die durchschnittlichen Fruchtgewichte waren beim Klimaversuch (vgl. Kapitel 6) für

die nördlicheren Standorte in der Regel kleiner oder gleich groß [309] im Vergleich zu den südlicheren Standorten, was die gegensätzlichen Ergebnisse erklären könnte.

Neben Variationen der Tanninkomponenten wiesen die Früchte der nördlicheren Regionen niedrigere Anthocyangehalte und höhere Vitamin C-Gehalte auf (vgl. Kapitel 6). Für Früchte, die unter Gewächshausbedingungen kultiviert wurden (vgl. Kapitel 4), konnte belegt werden, dass der Vitamin C-Gehalt und die Anthocyanakkumulation temperaturabhängig ist. Während der Vitamin C-Gehalt durch kühlere Umgebungstemperaturen positiv beeinflusst wird [147, 165, 166, 298], wird die Biosynthese von Anthocyanen durch wärmere Bedingungen angeregt [147, 166]. Dieses Phänomen wurde auch durch den Saisonversuch bestätigt (vgl. Kapitel 5). Aufgrund der oben erwähnten wechselnden Umweltfaktoren während der Freilandversuche und der Effekte durch die Kultivierung im Gewächshaus konnten die Ergebnisse der geschützten Versuche kaum auf alle anderen Substanzen übertragen werden. So wurden Quercetin-3-*O*-glucuronid und Cyanidin-3-*O*-glucosid in Gewächshausfrüchten nur in geringen Mengen detektiert, da ihre Synthese durch die UV-B-Strahlung stark beeinflusst wird (vgl. Kapitel 9) [163]. Die Gesamtphenolgehalte in den Gewächshausfrüchten waren die geringsten, die in dieser Studie für 'El-santa' gemessen wurden (vgl. Kapitel 4, 6 & 8). Im Vergleich zum konventionellen ebenerdigen Anbau (vgl. Kapitel 8) war der mittlere Gesamtphenolgehalt wie auch der TEAC-Wert in den Gewächshausfrüchten um 25 % verringert. Der mittlere ORAC-Wert hingegen war unter Gewächshausbedingungen um 9 % gegenüber den Freilandfrüchten erhöht. Im Hinblick auf die spezifischen phenolischen Inhaltsstoffe zeigten sich neben den erwähnten UV-B-abhängigen Phenolen wie z. .B. Quercetine Unterschiede zwischen Freiland und Gewächshaus bei der *p*-Cumaroyl-Glucose, das in den Gewächshausfrüchten in deutlich geringeren Mengen (-58 %) gebildet wurde als in den Freilandfrüchten. Der Gehalt von Kämpferolen unterschied sich beim Glucosid im Vergleich zu den Freilandfrüchten nicht (vgl. Tab. 10.1), der Gehalt an Kämpferol-3-*O*-malonylglucosid war hingegen in den Früchten, die im Gewächshaus erzeugt wurden, doppelt so hoch. Unklar ist in diesem Zusammenhang, ob das Mengenverhältnis zwischen diesen Kämpferolglycosiden durch fehlende UV-B-Einwirkung oder andere Faktoren hervorgerufen wird. Was die mengenmäßig bedeutendsten phenolischen Inhaltsstoffe anbelangt, zeigte sich bei Früchten aus dem Gewächshaus für die Ellagtanningehalte, bestimmt als Ellagsäure nach Hydrolyse, im Vergleich zu jenen aus dem Freilandanbau eine Abnahme um 40 % und für die Proanthocyanidine um 22 %. Der Gehalt an Vitamin C war bei den Gewächshausfrüchten lediglich um 10 % verringert während die Anthocyane verstärkt mit einer Erhöhung von 34 % gebildet wurden. Diese Unterschiede stehen im Einklang mit den Korrelationen des Sai-

sonversuches an der remontierenden Sorte 'Everest' (vgl. Kapitel 5), bei dem insgesamt eine stärkere Verbindung zwischen Ellagantanninen und dem TEAC- und Gesamtphenolwert bestand und für den ORAC-Wert eine stärkere Verbindung zu den Gehalten an PAC ermittelt wurde.

Da die Gewächshausversuche im Spätherbst stattfanden, wurden die Pflanzen bis zum Versuchsbeginn ungewöhnlich lange kühl gelagert. Während der Kühlagerung verringert sich der Kohlenhydratgehalt im Rhizom in Abhängigkeit von der Lagerdauer [312]. Dies spiegelte sich z. T. mit 6 °Brix auch in verhältnismäßig niedrigen Zuckergehalten der Früchte wider (vgl. Tab. 10.1). Da Zucker Ausgangsprodukte des Shikimisäureweges und damit auch der Ellagantannin- und Flavonoidbiosynthese sind [313, 314], könnte zum einen der niedrige Kohlenhydratgehalt der Grund für die deutlich geringeren Gehalte an bioaktiven Fruchtinhaltsstoffen sein. Zum anderen könnten für die Diskrepanzen die eingeschränkten Lichtverhältnisse zu jener Zeit verantwortlich sein. Die letzte These widerspricht allerdings dem ermittelten Vitamin C-Gehalt, da die Synthese lichtabhängig ist [165, 298] und die festgestellten Unterschiede zwischen Freiland- und Gewächshausfrüchten mit nur 10 % geringfügig waren.

Trotz niedriger Gesamtphenolgehalte und niedriger antioxidativer Kapazität enthielten die diskutierten Gewächshausfrüchte einen verhältnismäßig konstanten summarischen Gehalt der mengenmäßig bedeutendsten bioaktiven Inhaltstoffe (Anthocyane, Vitamin C, Ellagantannine, PAC) von über $1732 \mu\text{g g}^{-1}$. Dieser Wert war gegenüber den Freilanderdbeeren am deutschen Standort nur um weniger als 8 % ($1876 \mu\text{g g}^{-1}$, vgl. Kapitel 8) verringert. Anthocyane und Vitamin C besitzen einen geringeren Einfluss auf die antioxidative Kapazität als Proanthocyanidine oder Ellagantannine [89, 103, 315]. Die Summe von Anthocyanen, Proanthocyanidinen, Ellagsäure und Vitamin C-Gehalten zeigte keine Verbindung zu der antioxidativen Kapazität (ORAC und TEAC) und nur eine leichte Korrelation (nach Pearson $r = 0,3$) zu den Gesamtphenolen.

Bodenbedeckungsmaßnahmen & erhöhte Bodentemperatur unter GWH-Bedingungen

Die bisherigen Ergebnisse der Versuche zum Einfluss von Bodenbedeckungsmaßnahmen stimmten weitestgehend mit bisher durchgeführten Studien überein (vgl. Kapitel 8 in Verbindung mit Kapitel 2.4.3.6.1). So konnten die meisten bioaktiven Fruchtinhaltsstoffe durch den Dammanbau gesteigert werden. Die größten Unterschiede wiesen hierbei Früchte der Kontrolle (ebenerdiger Anbau im gewachsenen Boden mit Stroheinlage) und des Damms, der mit schwarzer Mulchfolie bedeckt war, auf. Bei der letztgenannten Variante waren die bioaktiven Inhaltsstoffe gegenüber der „Kontrolle“ um bis zu 30 % erhöht.

Die Versuche wurden zwar bewässert, doch ist unter der Mulchfolie in Abhängigkeit von der Jahreszeit von einem anderen Mikroklima im Vergleich zur „Kontrolle“ auszugehen.

Der Haupteinflussfaktor bei diesem Versuch war die Bodentemperatur, darum sollte durch eine Erhöhung der Bodentemperatur und Kultivierung in Säcken im Gewächshaus der Dammanbau simuliert werden (vgl. Kapitel 4) [166]. Als einziger vergleichbarer Parameter unter Gewächshausbedingungen konnte *p*-Cumaroyl-Glucose durch die Erhöhung der Bodentemperatur um 18 % signifikant gesteigert werden, der auch in auf dem schwarzen Damm erzeugten Erdbeeren im Mittel um 16 % (vgl. Kapitel 8) erhöht war. Die übrigen ermittelten Ergebnisse waren jedoch nicht direkt übertragbar. So waren bei diesem Versuch im Gewächshaus der Gesamtphenolgehalt, der TEAC-Wert sowie der Gehalt an PAC aufgrund der Erhöhung der Bodentemperatur sogar um 7 %, 9 % bzw. 17 % verringert. Der ORAC-Wert und die Gehalte an Anthocyanen bzw. Vitamin C wurden nicht beeinflusst. Die Ellagtannine waren durch die Erhöhung der Bodentemperatur nur tendenziell um 7 % erhöht. Allerdings muss an dieser Stelle berücksichtigt werden, dass auch die Trockenmasse im Gegensatz zum Dammversuch im Freiland durch die Erhöhung der Bodentemperatur nicht beeinflusst wurde (vgl. Kapitel 8).

Der Ergebnisvergleich der beiden Versuche zeigt erneut, dass die Ergebnisse „statischer“ Gewächshausversuche nicht direkt auf „dynamische“ Freilandversuche übertragbar sind. Wie bereits aufgeführt, weichen viele Faktoren im Freiland von denen unter Gewächshausbedingungen ab und variieren stärker. Für den Freilandversuch wurden die Pflanzen bereits im August des Vorjahres unter dem Einsatz von Mulchfolie und Dämmen kultiviert. Die Einflüsse der Anbauvarianten bestanden damit über einen wesentlich längeren Zeitraum, wodurch die Beziehung zwischen den Varianten im Freiland zudem von der Jahreszeit abhing. Bedingt durch die größere Oberfläche des bepflanzten Bodens wird die Bodentemperatur der Dämme im Vergleich zur Variante mit Stroheinlage während der Saison stärker aufgeheizt. Hingegen können im Winter beim Einsatz von Dämmen wesentlich kühlere Temperaturen vorherrschen [39]. Darüber hinaus wird die Bodentemperatur beim Damm von oben aufgeheizt und ist auf den oberen Wurzelbereich beschränkt [301]. Im Gegensatz hierzu wurde beim durchgeführten Gewächshausversuch der Wurzelbereich von unten erwärmt (vgl. Kapitel 4) [166]. Die durch Einsatz von Mulchfolie erzielte Bodentemperaturerhöhung wirkt sich auch auf die Temperatur im Pflanzenbestand aus [87]. Durch Isolierung der Säcke trat dieser Effekt beim Gewächshausversuch nicht auf. [166]. Weiterhin war die Bodentemperatur beim Gewächshausversuch in der Regel höher als die Umgebungstemperatur, während beim Anbau im Freiland die Temperatur der

Umgebungsluft zu Saisonbeginn tagsüber wesentlich höher und nachts kühler als die Bodentemperaturen war (vgl. Kapitel 8.3.1 Abb. 8.1).

Einfluss von UV-B-Strahlung bei Anwendung des geschützten Anbaus

Der Vergleich des Freilandanbaus mit dem geschützten Anbau im Wandertunnel unter Verwendung von zwei Folientypen (UV-B-durchlässig und -undurchlässig) zeigte, dass die Gehalte an bioaktiven Substanzen und die antioxidative Kapazität bei diesen grundverschiedenen Kultivierungsweisen verhältnismäßig konstant waren (vgl. Kapitel 9) [163]. Dennoch konnte wegen der fehlenden UV-B-Strahlung eine deutliche Verringerung der Gehalte an Quercetin-3-*O*-glucuronid, Cyanidin-3-*O*-glucosid und Kämpferol-3-*O*-glucosid von z. T. über 80 % nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse geben Aufschluss über Einflussfaktoren auf die Induktion der Flavonoidbiosynthese.

In diesem Zusammenhang ist festzuhalten, dass Untersuchungen zur Biosynthese von phenolischen Inhaltsstoffen im Gewächshaus sich nur bedingt eignen. Bei der Bezugnahme auf bereits publizierte Studien unter Gewächshausbedingungen zu den absoluten Gehalten von Quercetin-3-*O*-glucuronid [64] und auf metabolomische Untersuchungen während der Fruchtreife [97] sollte dieses Ergebnis berücksichtigt werden.

Im Gegensatz zu den erzielten Ergebnisse wurde in einer Studie mit UV-durchlässiger und undurchlässiger Folie von Tsormptsidis et al. [204] an drei Terminen der Blühbeginn von Erdbeerpflanzen nach der Fruchtstellung (primär, sekundär, tertiär) markiert. Die Früchte wurden bei kommerzieller Reife unter der UV-undurchlässigen Folie geerntet, so dass die Früchte aller Varianten unabhängig vom Reifegrad dasselbe chronologische Alter besaßen. In der betreffenden Studie konnte bei der getrennten Untersuchung von primären, sekundären und tertiären Früchten ein positiver Effekt von UV-B-Strahlung auf Anthocyane, Gesamtflavonoide und Gesamtphenole festgestellt werden, der von den Autoren mit dem Einfluss von UV-B-Strahlung begründet wurde (vgl. auch Kapitel 2.4.3.6.2). Einzelne phenolische Inhaltsstoffe wie Quercetine oder Cyanidine blieben jedoch unberücksichtigt. Die detektierten Unterschiede zwischen den in jener Studie [204] erzielten Ergebnissen und denen, die im Rahmen dieser Arbeit bzw. denen, die von Ordidge et al. [203] gewonnen wurden, werden von Tsormptsidis et al. [204] durch eine Maskierung aufgrund vollständiger Untersuchung des Probenmaterials begründet. Allerdings wurden Temperaturunterschiede zwischen den beiden Varianten von Tsormpatsidis et al. [204] nicht beachtet. Obwohl im Rahmen der vorliegenden Arbeit lediglich ein Tunnel mit zwei Eindeckmaterialien (UV-B-undurchlässige Folie und der UV-B-durchlässige Folie) unter ständiger Belüftung verwendet wurde, konnten unter dem UV-B-durchlässigen Material

höhere Temperaturen beobachtet werden [163]. Bei der Untersuchung von Tsormpatsidis et al. [204] handelte es sich im Gegensatz zu den eigenen Untersuchungen um geschlossene Systeme, bei denen die Temperatur, bedingt durch die UV-B Strahlung, im Vergleich zur Variante ohne UV-B-Strahlung noch stärker ansteigen könnte. Die erzielten Ergebnisse wären demnach das Resultat eines Temperaturanstieges und nicht der Effekt von UV-Strahlung. Zudem wurden die Früchte mit exakt demselben Alter unabhängig vom Reifegrad geerntet. Da die Fruchtreife bei höheren Temperaturen aber schneller voranschreitet [39, 309], könnte dies auch bedeuten, dass die Früchte aus dem Folienhaus mit UV-undurchlässiger Folie möglicherweise noch nicht vollständig reif waren.

Chemisch-analytische Aspekte & Bezugsgrößen

In vielen Studien wurden die Tanninkomponenten nicht berücksichtigt, obwohl sie anteilig zu der wichtigsten phenolischen Gruppe in Erdbeeren zählen [65, 77, 83, 95, 173, 280]. Ein Grund hierfür ist, dass diese Substanzen analytisch schwieriger zu erfassen sind als die übrigen Phenole. So lassen sich Proanthocyanidine (PAC) an RP-Phasen nur schlecht trennen und sind daher nur bedingt geeignet zur Quantifizierung von PAC [64, 102, 285]. Da in der vorliegenden Arbeit aufgrund eines hohen Probenaufkommens Schnellmethoden (vgl. Kapitel 1.1) zur Bestimmung der kondensierten und hydrolysierbaren Tannine verwendet wurden, war mit analytischen Ungenauigkeiten zu rechnen. So wurden die PAC in der vorliegenden Arbeit in erster Linie photometrisch mittels DMAZA bestimmt, eine Methode, die nur die Endgruppen von PAC erfasst [316]. Aus diesem Grund werden höher polymerisierte Verbindungen nicht oder nur z. T. erfasst. Die Methode führt folglich häufig zu einer Unterschätzung der PAC-Gehalte. Ebenso wurden die Ellagtannine nach einer sauren Hydrolyse als Ellagsäure quantifiziert.

Durch diese Methode werden die in der Frucht vorherrschenden Strukturen zerstört, so dass Informationen z. B. über die Molekülgröße und die Verteilung einzelner Substanzen nicht mehr gewonnen werden können. Neben anderen jüngeren Studien [56, 72, 133] zeigten auch Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit (vgl. Kapitel 7), dass sich chromatographische Schnellmethoden in Verbindung mit der Massenspektrometrie (LC-ESI-MS) und mit Auswertehilfe statistischer Verfahren eignen, um eine hohe Anzahl von Proben zu bewerten [317]. Die zu detektierenden Molekülmassen sind bei LC-ESI-MS gerätetechnisch in der Regel auf m/z 2000 begrenzt, weshalb auch diese Methoden nur eingeschränkt genutzt werden können und durch andere Verfahren wie z. B. MALDI-TOF oder NMR zu ergänzen sind [318]. Zudem wird die Analytik durch das gleichzeitige Vorkommen von PAC und Ellagtanninen in Erdbeeren verkompliziert [72].

Die Schnellmethode zur Bestimmung der Anthocyane in Erdbeeren mittels pH-Shift erwies sich hingegen als effektiver Ersatz von Messungen mittels HPLC. Dadurch, dass bei der erstgenannten Messung keine Kalibriergerade, sondern nur ein theoretischer Extinktionskoeffizient verwendet wurde, waren die HPLC- Ergebnisse niedriger als die der photometrischen Methode. Dennoch zeigte sich zwischen den ermittelten Werten der beiden Methoden eine hohe Korrelation von über $r = 0,9$.

Darüber hinaus wurde im Rahmen dieser Arbeit die Bestimmung der antioxidativen Kapazität (TEAC) und der Gesamtphenole optimiert und auf das 96-well Format übertragen (vgl. Kapitel 3.5) [319]. Die beiden Methoden wurden damit wesentlich beschleunigt und effizienter gestaltet. Wie bereits erwähnt ist bei der Bestimmung der antioxidativen Kapazität zu berücksichtigen, dass bestimmte phenolische Substanzen stärker erfasst werden als andere [89, 92, 103, 315]. Viele Veränderungen von bioaktiven Inhaltsstoffen werden daher nicht detektiert (vgl. Kapitel 9). Zur Untersuchung von antioxidativen Inhaltsstoffen sollten darum weitere Methoden mitgeführt werden, um alle wichtigen Substanzgruppen zu erfassen. Da zur Analyse von bioaktiven Substanzen keine standardisierten Probenvorbereitungs-, Extraktions- und Analysemethoden existieren (vgl. Kapitel 2.5), sind die Ergebnisse insgesamt nur eingeschränkt mit denen anderer Studien vergleichbar. Insgesamt stimmten die Bereiche der ermittelten Gehalte mit denen der Literatur überein (vgl. auch Kapitel 2.1, Tab. 2.1) [308].

Die Ergebnisse der analysierten Substanzen wurden in der vorliegenden Arbeit auf das Frischgewicht bezogen. Bei anderen Studien wurden die Ergebnisse z. T. auch auf die Trockensubstanz ausgedrückt [134, 161]. Wie die Ergebnisse des Bodenbedeckungsmaterial- (vgl. Kapitel 8) und des Klimaversuches (vgl. Kapitel 9) zeigten, kann sich das Ergebnis mit Bezug auf die Trockensubstanz stark verändern. Unklar ist in diesem Zusammenhang, ob von einer Art Verdünnungseffekt auszugehen ist, was allerdings den konstanten Gehalten der Parameter wie der Gesamtsäure widersprechen würde. Wahrscheinlicher ist eine erhöhte Synthese von Zuckerbausteinen bzw. eine kompaktere Entwicklung der Zellen. Für die Interpretation der Daten sollten daher auch zukünftig beide Bezugsgrößen berücksichtigt werden. Darüber hinaus sollte, wie oben beschrieben, ebenso die Fruchtgröße beachtet werden.

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass auch der Zeitpunkt der Probenahme ausschlaggebend ist. Die erste Probe der Früchte, die unter Verwendung des schwarzen Dammes kultiviert wurde, konnte nicht mit den Ergebnissen der anderen Varianten verglichen werden, die wenige Tage später gezogen wurden. Bei der ersten Probe waren die Anthocyan-

gehalte wesentlich niedriger (−33 %) und die Gesamtphenolgehalte höher (+15 %) als bei Früchten, die an den darauffolgenden Terminen geerntet wurden [158].

Zudem steht im Zusammenhang mit bioaktiven Inhaltsstoffen immer wieder der Einfluss der Fruchtstellung im Fokus [77, 87, 204, 320, 321]. So enthalten tertiäre Früchte z. T. höhere Gehalte an sekundären Inhaltsstoffen als primäre. Die Fruchtgröße nimmt mit der Fruchtordnung ab [321]. Darum ist diese Beobachtung, wie bereits oben beschrieben, auf Unterschiede des Oberflächen/Volumen-Verhältnisses zurückzuführen und nicht ursächlich auf die Fruchtordnung. Einerseits sind phenolische Inhaltsstoffe hauptsächlich in der Haut der Früchte lokalisiert (vgl. Kapitel 9), andererseits befinden sich Ellagttannine primär in den Nüsschen auf der Frucht [94, 95, 163, 184, 311].

Potentielle Wirkungen von veränderten Gehalten an antioxidativen Inhaltsstoffe in Erdbeeren

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigten, dass bioaktive Inhaltsstoffe in Früchten je nach Genotyp, Klima und Kulturmaßnahmen variieren können, die Summe der anteilig bedeutendsten Inhaltsstoffe hingegen schwankte nur geringfügig. Um Schlussfolgerungen bezüglich des Ernährungswertes ziehen zu können, sind weitere Studien notwendig, die Bioverfügbarkeit, synergistische Effekte der einzelnen Substanzgruppen und die Matrix berücksichtigen. Meyers et al. [280] zeigten, dass verschiedene Erdbeersorten unterschiedlich starke antiproliferative Aktivitäten aufwiesen. Doch weder die antioxidative Kapazität noch der Gehalt an Anthocyanen zeigte hierzu einen direkten Zusammenhang. Diese Beobachtung wurde durch Versuche an Brombeeren bestätigt [322].

Ob sich die phenolischen Inhaltsstoffe, wenn sie über die Ernährung aufgenommen werden, positiv auf die menschliche Gesundheit auswirken und Krankheiten wie Krebs, koronarer Herzerkrankungen oder Alzheimer vorbeugen, können daher nicht direkt mit der antioxidativen Kapazität von Lebensmitteln in Verbindung gebracht werden. Aus diesen Gründen zog die USDA's Nutrient Data Laboratory ihre Datenbank von ORAC-Werten verschiedener Lebensmittel kürzlich zurück [323].

Neben positiven Effekten der Früchte auf die menschliche Gesundheit wird die Widerstandsfähigkeit von Pflanzen und deren Früchte im Allgemeinen bzw. deren Haltbarkeit und Stabilität erforscht [82, 134, 148, 205, 237], was vor allem im Zuge des Klimawandels von hoher Relevanz sein könnte.

10.3 Fazit und Ausblick

Bioaktive Inhaltsstoffe der Erdbeere werden in erster Linie durch den Genotyp geprägt. Darüber hinaus zeigten sich Kulturmaßnahmen und die Herkunft als zentrale Einflussgröße von sekundären Pflanzeninhaltsstoffen. Die Sorten wiesen im Allgemeinen ein ähnliches Verhalten auf, was am Beispiel des Klimaversuches und des UV-B-Versuches belegt werden konnte. Dennoch sind auf diesem Gebiet weitere Untersuchungen erforderlich. Trotz detaillierter Messung von Umgebungsbedingungen wie Temperatur oder PAR konnten die Ursachen für eine unterschiedliche Synthese der Sekundärmetabolite nur vereinzelt zugeordnet werden. Dies liegt vor allem daran, dass im Rahmen dieser Arbeit nur die reifen Früchte analysiert wurden. Bioaktive Inhaltsstoffe werden je nach Substanzgruppe in den verschiedenen Stadien der Fruchtreife gebildet [73]. Aus diesem Grund ist eine Verknüpfung von Klimadaten und einzelnen Reifestadien der Früchte notwendig, um die Einflussfaktoren auf die Biosynthese klären zu können. Die Herkunft beeinflusst die Zusammensetzung bioaktiver Substanzen in unterschiedlichen Reifestadien der Erdbeere wesentlich [73], die möglichen klimatischen Ursachen hierfür wurden allerdings in der Studie von Carbone et al. [73] nicht berücksichtigt. Hier sind weitere Untersuchungen erforderlich, um z. B. den Einfluss des Klimawandels bewerten und vor allem die Anpassungsfähigkeit der Pflanzen aufzuklären zu können.

In der vorliegenden Arbeit blieb weitestgehend unklar wie die Ellagtannine beeinflusst werden und welchen Beitrag die Nüsschen, in denen Ellagtannine in erster Linie vorkommen, dazu leisten. Darum sollte in weiteren Studien eine getrennte Untersuchung von Fruchtfleisch und den Achänen in Erwägung gezogen werden.

Die Steuerung der Biosynthese von Quercetin-3-glucuronid und Cyanidin-3-glucosid durch UV-B-Strahlung könnte weiterhin Aufschluss über Regulationsfaktoren der Flavonoidbiosynthese geben. Somit könnten gezieltere Untersuchungen auf dem Gebiet der Expressionsanalyse stattfinden, um herauszufinden, warum Pelargonidin-basierte Anthocyane nicht durch UV-B-Strahlung beeinflusst wurden. Alle Ergebnisse sollten daraufhin geprüft werden, ob sie auf andere Arten übertragbar sind, da die phenolische Zusammensetzung stark von der jeweiligen Kultur abhängt [76, 93, 103, 287, 324]

Durch die erzielten Ergebnisse konnten insgesamt Verschiebungen in der Zusammensetzung von sekundären Fruchtinhaltsstoffen beobachtet werden. Die Summe der anteilig bedeutendsten Substanzen blieb allerdings verhältnismäßig konstant. Hinsichtlich des Ernährungswertes und möglicher positiver Gesundheitseffekte kann derzeit keine Aussage getroffen werden, weil Kenntnisse zur Wirkung bioaktiver Substanzen auf den menschlichen Organismus im Detail sowie der unterstützenden Wirkung bestimmter Substanz-

gruppen wie z. B. Vitamin C fehlen. Die Studie von Meyers et al. [280] zeigte Sortenunterschiede bei antiproliferativen Eigenschaften, die unabhängig von der gemessenen antioxidativen Kapazität bzw. den Anthocyangehalten der Früchte waren. Darum sollten weiterführende Untersuchungen bewerten, auf welchen sekundären Inhaltsstoffen die Unterschiede beruhen und inwieweit Untersuchungen *in vivo* durchführbar sind. Erst dann sind Empfehlungen zu bestimmten Sorten oder Kulturmaßnahmen wie z. B. bezüglich der Frage, ob der Dammanbau mittels Polyethylenfolien angewendet werden soll oder nicht, möglich. Denkbar wäre in diesem Zusammenhang in erster Linie, dass, um einen gleichbleibenden gesundheitlichen Effekt zu erzielen, bei derselben Sorte unterschiedliche Verzehrsmengen in Abhängigkeit von der Herkunft oder Kulturtechnik angegeben werden. Interessant wäre weiterhin zu untersuchen, wie sich Unterschiede der phenolischen Zusammensetzung der Rohware auf Verarbeitungsprodukte wie Saft oder Konfitüren auswirken. Hierbei könnte zum einen die Produktstabilität eine Rolle spielen und zum anderen Änderungen der Bioverfügbarkeit, die sich durch den Verarbeitungsprozess ergeben.

Was die Praxis des Anbaus von Erdbeeren betrifft, kann festgehalten werden, dass bis dato mit Ausnahme der fehlenden UV-B-Strahlung beim Tunnelanbau unter Verwendung von Standardpolyethylenfolie keine wesentlichen Nachteile einzelner kulturtechnischer Verfahren zu erwarten sind. Bei Verwendung von UV-B-durchlässiger Folie beim Anbau im Wandertunnel kann die Synthese der oben aufgeführten Flavonoide gewährleistet werden. Die Versuche zeigten, dass sich im Laufe der Saison die Inhaltsstoffe innerhalb einer Sorte wesentlich unterscheiden können. Beim Anbau vor allem unter Freilandbedingungen wird es ständig Faktoren geben, die sich einer Beeinflussung entziehen.

11

Literaturverzeichnis

- [1] Kushi, L.H., Byers, T., Doyle, C., Bandera, E.V., McCullough, M., Gansler, T., Andrews, K.S. und Thun, M.J., American cancer society guidelines on nutrition and physical activity for cancer prevention: reducing the risk of cancer with healthy food choices and physical activity, *CA: A Cancer Journal for Clinicians* **56** (2006) 254-281.
- [2] Ragaert, P., Verbeke, W., Devlieghere, F. und Debevere, J., Consumer perception and choice of minimally processed vegetables and packaged fruits, *Food Quality and Preference* **15** (2004) 259-270.
- [3] Ministerium für Klimaschutz, Umwelt Landwirtschaft Natur und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen, Ernährung: <http://www.umwelt.nrw.de/verbraucherschutz/ernaehrung/index.php>; (2012)
- [4] Siró, I., Kápolna, E., Kápolna, B. und Lugasi, A., Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance: A review, *Appetite* **51** (2008) 456-467.
- [5] Beresford, S.A., Thompson, B., Feng, Z., Christianson, A., McLerran, D. und Patrick, D.L., Seattle 5 a day worksite program to increase fruit and vegetable consumption, *Preventive Medicine* **32** (2001) 230-238.
- [6] Lampe, J.W., Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies, *The American Journal of Clinical Nutrition* **70** (1999) 475S-490S.
- [7] Hung, H.C., Joshipura, K.J., Jiang, R., Hu, F.B., Hunter, D., Smith-Warner, S.A., Colditz, G.A., Rosner, B., Spiegelman, D. und Willett, W.C., Fruit and vegetable intake and risk of major chronic disease, *Journal of the National Cancer Institute* **96** (2004) 1577-1584.
- [8] Naska, A., Vasdekis, V.G.S., Trichoupoulou, A., Friel, S., Leonhäuser, I.U., Moreiras, O., Nelson, M., Remaut, A.M., Schmitt, A., Sekula, W., Trygg, K.U. und Zajkás, G., Fruit and vegetable availability among ten European countries: How does it compare with the 'five-a-day' recommendation?, *British Journal of Nutrition* **84** (2000) 549-556.
- [9] American Institute for Cancer Research, Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. Washington, DC: AICR, 2007, *World Cancer Research Fund International* (2007).
- [10] Battino, M., Beekwilder, J., Denoyes-Rothan, B., Laimer, M., McDougall, G.J. und Mezzetti, B., Bioactive compounds in berries relevant to human health, *Nutrition Reviews* **67** (2009) 145-150.
- [11] Del Rio, D., Costa, L.G., Lean, M.E.J. und Crozier, A., Polyphenols and health: What compounds are involved?, *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* **20** (2010) 1-6.
- [12] Halliwell, B., Antioxidants in human health and disease, *Annual Review of Nutrition* **16** (1996) 33-50.
- [13] Hollman, P.C.H. und Katan, M.B., Dietary flavonoids: Intake, health effects and bioavailability, *Food and Chemical Toxicology* **37** (1999) 937-942.
- [14] Scalbert, A., Morand, C., Manach, C. und Rémésy, C., Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health, *Biomed Pharmacother* **56** (2002) 276-282.
- [15] Szajdek, A. und Borowska, E.J., Bioactive compounds and health-promoting properties of berry fruits: A review, *Plant Foods for Human Nutrition* (2008).
- [16] Wollgast, J. und Anklam, E., Polyphenols in chocolate: Is there a contribution to human health?, *Food Research International* **33** (2000) 449-459.
- [17] Zafra-Stone, S., Taharat, Y., Bagchi, M., Chatterjee, A., Vinson, J.A. und Bagchi, D., Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention, *Molecular Nutrition & Food Research* **51** (2007) 675-683.

- [18] Ndhlala, A.R., Moyo, M. und Van Staden, J., Natural antioxidants: Fascinating or mythical biomolecules?, *Molecules* **15** (2010) 6905-6930.
- [19] Tomás-Barberán, F.A. und Espin, J.C., Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables, *Journal of the Science of Food & Agriculture* **81** (2001) 853-876.
- [20] Aherne, S.A. und O'Brien, N.M., Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism, *Nutrition* **18** (2002) 75-81.
- [21] Heim, K.E., Tagliaferro, A.R. und Bobilya, D.J., Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships, *The Journal of Nutritional Biochemistry* **13** (2002) 572-584.
- [22] Chun, O.K., Chung, S.J. und Song, W.O., Estimated dietary flavonoid intake and major food sources of U.S. adults, *The Journal of Nutrition* **137** (2007) 1244-1252.
- [23] Chun, O.K., Kim, D.O., Smith, N., Schroeder, D., Han, J.T. und Lee, C.Y., Daily consumption of phenolics and total antioxidant capacity from fruit and vegetables in the American diet, *Journal of the Science of Food and Agriculture* **85** (2005) 1715-1724.
- [24] Halvorsen, B.L., Holte, K., Myhrstad, M.C.W., Barikmo, I., Hvattum, E., Remberg, S.F., Wold, A.B., Haffner, K., Bangerød, H., Andersen, L.F., Moskaug, J.Ø., Jacobs, D.R. und Blomhoff, R., A systematic screening of total antioxidants in dietary plants, *The Journal of Nutrition* **132** (2002) 461-471.
- [25] Khanal, R.C., Howard, L.R. und Prior, R.L.R., Procyanidin composition of selected fruits and fruit byproducts is affected by extraction method and variety, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (2009).
- [26] Parry, J., Su, L., Moore, J., Cheng, Z., Luther, M., Rao, J.N., Wang, J.Y. und Yu, L.L., Chemical compositions, antioxidant capacities, and antiproliferative activities of selected fruit seed flours, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54** (2006) 3773-3778.
- [27] Häkkinen, S.H., Heinonen, I.M., Karenlampi, S.O., Mykkanen, H.M., Ruuskanen, J. und Törrönen, A.R., Screening of selected flavonoids and phenolic acids in 19 berries, *Food Research International* **32** (1999) 345-353.
- [28] Häkkinen, S.H., Karenlampi, S.O., Heinonen, I.M., Mykkanen, H.M. und Törrönen, A.R., Content of the flavonols quercetin, myricetin, and kaempferol in 25 edible berries, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **47** (1999) 2274-2279.
- [29] Häkkinen, S.H., Mykkanen, H.M., Heinonen, I.M. und Törrönen, A.R., Ellagic acid content in berries: Influence of domestic processing and storage, *European Food Research and Technology* **212** (2000) 75-80.
- [30] Seeram, N.P., Berry fruits: compositional elements, biochemical activities, and the impact of their intake on human health, performance, and disease, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56** (2008) 627-629.
- [31] Paredes-López, O., Cervantes-Ceja, M., Vigna-Pérez, M.Á. und Hernández-Pérez, T., Berries: Improving human health and healthy aging, and promoting quality life - A review, *Plant Foods for Human Nutrition (Formerly Qualitas Plantarum)* **65** (2010) 299-308.
- [32] Seeram, N. P., Strawberry phytochemicals and human health: A review
http://www.calstrawberry.com/filedata/docs/nut_rh_seeram_navindra_phytochemicals.pdf, 2006
- [33] Hannum, S.M., Potential impact of strawberries on human health: A review of the science, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **44** (2004) 1-17.
- [34] Tulipani, S., Mezzetti, B. und Battino, M., Impact of strawberries on human health: Insight into marginally discussed bioactive compounds for the Mediterranean diet, *Public Health Nutrition* **12** (2009) 1656-1662.

- [35] Wolfe, K.L., Kang, X., He, X., Dong, M., Zhang, Q. und Liu, R.H., Cellular antioxidant activity of common fruits, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56** (2008) 8418-8426.
- [36] FAOSTAT, Food and Agriculture Organization of the United Nations: <http://faostat.fao.org>, *FAOSTAT database* (2012).
- [37] AMI, Marktbilanz Obst: Daten, Fakten, Entwicklung: Deutschland, EU, Welt, *Agrarmarkt Informations-Gesellschaft mbH* (2010).
- [38] BMELV, Ertragslage Garten- und Weinbau: <http://www.bmelv-statistik.de/de/testbetriebsnetz/ertragslage-des-garten-und-weinbaus/>, *Bundestministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz* (2012).
- [39] Hancock, J.F., *Strawberries - Crop Production Science in Horticulture* CABI Publishing (1999)
- [40] Dierend, W., R. Jung, E. Krüger, und L. Linnemannstöns, *Erdbeeranbau Ulmer* (2012)
- [41] Aaby, K., Mazur, S., Nes, A. und Skrede, G., Phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits: Composition in 27 cultivars and changes during ripening, *Food Chemistry* **132** (2012) 86-97.
- [42] André, C.M., Oufir, M., Hoffmann, L., Hausman, J.F., Rogez, H., Larondelle, Y. und Evers, D., Influence of environment and genotype on polyphenol compounds and in vitro antioxidant capacity of native Andean potatoes (*Solanum tuberosum* L.), *Journal of Food Composition and Analysis* **22** (2009) 517-524.
- [43] Bonerz, D., Würth, K., Dietrich, H. und Will, F., Analytical characterization and the impact of ageing on anthocyanin composition and degradation in juices from five sour cherry cultivars, *European Food Research and Technology* **224** (2007) 355-364.
- [44] Bordonaba, J.G. und Terry, L.A., Biochemical profiling and chemometric analysis of seventeen UK-grown black currant Cultivars, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56** (2008) 7422-7430.
- [45] Capocasa, F., Scalzo, J., Mezzetti, B. und Battino, M., Combining quality and antioxidant attributes in the strawberry: The role of genotype, *Food Chemistry* **111** (2008) 872-878.
- [46] Cordenunsi, B.R., Oliveira do Nascimento, J.R., Genovese, M.I. und Lajolo, F.M., Influence of cultivar on quality parameters and chemical composition of strawberry fruits grown in Brazil, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50** (2002) 2581-2586.
- [47] Guerrero, J., Ciampi, L., Castilla, A., Medel, F., Schalchli, H., Hormazabal, E., Bensch, E. und Alberdi, M., Antioxidant capacity, anthocyanins, and total phenols of wild and cultivated berries in Chile, *Chilean Journal of Agricultural Research* **70** (2010) 537-544.
- [48] Häkkinen, S.H. und Törrönen, A.R., Content of flavonols and selected phenolic acids in strawberries and *Vaccinium* species: Influence of cultivar, cultivation site and technique, *Food Research International* **33** (2000) 517-524.
- [49] Krüger, E., Dietrich, H., Schöppl, E., Rasim, S. und Kürbel, P., Cultivar, storage conditions and ripening effects on physical and chemical qualities of red raspberry fruit, *Postharvest Biology and Technology* **60** (2011) 31-37.
- [50] Luthria, D.L., Mukhopadhyay, S. und Krizek, D.T., Content of total phenolics and phenolic acids in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruits as influenced by cultivar and solar UV radiation, *Journal of Food Composition and Analysis* **19** (2006) 771-777.
- [51] Pandjaitan, N., Howard, L.R., Morelock, T. und Gil, M.I., Antioxidant capacity and phenolic content of spinach as affected by genetics and maturation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53** (2005) 8618-8623.

- [52] Scalzo, J., Politi, A., Pellegrini, N., Mezzetti, B. und Battino, M., Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit, *Nutrition* **21** (2005) 207-213.
- [53] Jaakola, L. und Hohtola, A., Effect of latitude on flavonoid biosynthesis in plants, *Plant, Cell & Environment* **33** (2010) 1239-1247.
- [54] Treutter, D., Managing phenol contents in crop plants by phytochemical farming and breeding - visions and constraints, *International Journal of Molecular Sciences* **11** (2010) 807-857.
- [55] hortipratic, La culture du fraisier sur substrat Editions Centre technique interprofessionel des fruits et légumes (2003)
- [56] Stewart, D., McDougall, G.J., Sungurtas, J., Verall, S., Graham, J. und Martinussen, I., Metabolomic approach to identifying bioactive compounds in berries: Advances toward fruit nutritional enhancement, *Molecular Nutrition & Food Research* **51** (2007) 645-651.
- [57] Krüger, E., Dietrich, H., Kaim, E. und Ulrich, D., EU fördert Beerenobstforschung, *Obstbau* **12** (2011) 664-665.
- [58] DTU National Food Institute, The official Danish Food Composition Database: <http://www.foodcomp.dk>; (2012)
- [59] Azzini, E., Intorre, F., Vitaglione, P., Napolitano, A., Foddai, M.S., Durazzo, A., Fumagalli, A., Catasta, G., Rossi, L., Venneria, E., Testa, M.F., Raguzzini, A., Palomba, L., Fogliano, V. und Maiani, G., Absorption of strawberry phytochemicals and antioxidant status changes in humans, *Journal of Berry Research* **1** (2010) 81-89.
- [60] Kajdžanoska, M., Gjamovski, V. und Stefova, M., HPLC-DAD-ESI-MSⁿ identification of phenolic compounds in cultivated strawberries from Macedonia, *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering* **29** (2010) 181-194.
- [61] Määttä-Riihinen, K.R., Kamal-Eldin, A. und Törrönen, A.R., Identification and quantification of phenolic compounds in berries of *Fragaria* and *Rubus* species (family Rosaceae), *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52** (2004) 6178-6187.
- [62] Aaby, K., Ekeberg, D. und Skrede, G., Characterization of phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa*) fruits by different HPLC detectors and contribution of individual compounds to total antioxidant capacity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55** (2007) 4395-4406.
- [63] Lopes da Silva, F., Escribano-Bailón, M.T., Pérez-Alonso, J.J., Rivas-Gonzalo, J.C. und Santos-Buelga, C., Anthocyanin pigments in strawberry, *LWT - Food Science and Technology* **40** (2007) 374-382.
- [64] Buendía, B., Gil, M.I., Tudela, J.A., Gady, A.L., Medina, J.J., Soria, C., López, J.M. und Tomás-Barberán, F.A., HPLC-MS analysis of proanthocyanidin oligomers and other phenolics in 15 strawberry cultivars, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58** (2010) 3916-3926.
- [65] Wang, S.Y. und Millner, P., Effect of different cultural systems on antioxidant capacity, phenolic content, and fruit quality of strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.), *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57** (2009) 9651-9657.
- [66] Wang, S.Y., Zheng, W. und Galletta, G.J., Cultural system affects fruit quality and antioxidant capacity in strawberries, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50** (2002) 6534-6542.
- [67] Mattila, P., Hellström, J. und Törrönen, R., Phenolic acids in berries, fruits, and beverages, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54** (2006) 7193-7199.
- [68] Clifford, M.N. und Scalbert, A., Ellagitannins - nature, occurrence and dietary burden, *Journal of the Science of Food & Agriculture* **80** (2000) 1118-1125.

- [69] da Silva Pinto, M., Lajolo, F.M. und Genovese, M.I., Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.), *Food Chemistry* **107** (2008) 1629-1635.
- [70] Koponen, J.M., Happonen, A.M., Mattila, P.H. und Törrönen, A.R., Contents of anthocyanins and ellagitannins in selected foods consumed in Finland, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55** (2007) 1612-1619.
- [71] Mattila, P. und Kumpulainen, J., Determination of free and total phenolic acids in plant-derived foods by HPLC with diode-array detection, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50** (2002) 3660-3667.
- [72] McDougall, G.J., Martinussen, I. und Stewart, D., Towards fruitful metabolomics: High throughput analyses of polyphenol composition in berries using direct infusion mass spectrometry, *Journal of Chromatography B* **871** (2008) 362-369.
- [73] Carbone, C., Preuss, A., De Vos, R.C.H., D'Amico, E., Perrotta, G., Bovy, A.G., Martens, S. und Rosati, C., Developmental, genetic and environmental factors affect the expression of flavonoid genes, enzymes and metabolites in strawberry fruits, *Plant, Cell & Biology* **32** (2009) 1117-1131.
- [74] Landete, J.M., Ellagitannins, ellagic acid and their derived metabolites: A review about source, metabolism, functions and health, *Food Research International* **44** (2011) 1150-1160.
- [75] de Pascual-Teresa, S., Santos-Buelga, C. und Rivas-Gonzalo, J.C., Quantitative analysis of flavan-3-ols in spanish foodstuffs and beverages, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48** (2000) 5331-5337.
- [76] Gu, L., Kelm, M.A., Hammerstone, J.F., Beecher, G.R., Holden, J., Haytowitz, D.B., Gebhardt, S.E. und Prior, R.L.R., Concentrations of proanthocyanidins in common foods and estimations of normal consumption, *Journal of Nutrition* **134** (2004) 613-617.
- [77] Anttonen, M.J., Hoppula, K.I., Nestby, R., Verheul, M.J. und Karjalainen, R.O., Influence of fertilization, mulch color, early forcing, fruit order, planting date, shading, growing environment, and genotype on the contents of selected phenolics in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54** (2006) 2614-2620.
- [78] Klopotek, Y., Otto, K. und Bohm, V., Processing strawberries to different products alters contents of vitamin C, total phenolics, total anthocyanins, and antioxidant capacity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53** (2005) 5640-5646.
- [79] Asami, D.K., Hong, Y.J., Barrett, D.M. und Mitchell, A.E., Comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried and air-dried marionberry, strawberry, and corn grown using conventional, organic, and sustainable agricultural practices, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51** (2003) 1237-1241.
- [80] Kalt, W., Forney, C.F., Martin, A. und Prior, R.L.R., Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **47** (1999) 4638-4644.
- [81] Ferreyra, R.M., Vina, S.Z., Mugridge, A. und Chaves, A.R., Growth and ripening season effects on antioxidant capacity of strawberry cultivar Selva, *Scientia Horticulturae* **112** (2007) 27-32.
- [82] Hukkanen, A.T., Kokko, H.I., Buchala, A.J., McDougall, G.J., Stewart, D., Karenlampi, S.O. und Karjalainen, R.O., Benzothiadiazole induces the accumulation of phenolics and improves resistance to powdery mildew in strawberries, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55** (2007) 1862-1870.
- [83] Zheng, Y., Wang, S.Y., Wang, C.Y. und Zheng, W., Changes in strawberry phenolics, anthocyanins, and antioxidant capacity in response to high oxygen treatments, *LWT - Food Science and Technology* **40** (2007) 49-57.

- [84] Tsao, R., Yang, R., Socknovie, E., Zhou, T. und Dale, A., Antioxidant phytochemicals in cultivated and wild canadian strawberries, *Acta Horticulturae* **626** (2009) 25-35.
- [85] Reganold, J.P., Andrews, P.K., Reeve, J.R., Carpenter-Boggs, L., Schadt, C.W., Alldredge, J.R., Ross, C.F., Davies, N.M. und Zhou, J., Fruit and soil quality of organic and conventional strawberry agroecosystems, *PLoS ONE* **5** (2010) e12346.
- [86] Jin, P., Wang, S.Y., Wang, C.Y. und Zheng, Y.H., Effect of cultural system and storage temperature on antioxidant capacity and phenolic compounds in strawberries, *Food Chemistry* **124** (2011) 262-270.
- [87] Atkinson, C.J., Dodds, P.A.A., Ford, Y.Y., Le Miere, J., Taylor, J.M., Blake, P.S. und Paul, N., Effects of cultivar, fruit number and reflected photosynthetically active radiation on *Fragaria x ananassa* productivity and fruit ellagic acid and ascorbic acid concentrations, *Annals of Botany* **97** (2006) 429-441.
- [88] Oszmianski, J., Wojdylo, A. und Kolniak, J., Effect of l-ascorbic acid, sugar, pectin and freeze-thaw treatment on polyphenol content of frozen strawberries, *LWT - Food Science and Technology* **42** (2009) 581-586.
- [89] Pineli, L.d.L.d.O., Moretti, C.L., Rodrigues, J.S., Ferreira, D.B. und Chiarello, M.D., Variations in antioxidant properties of strawberries grown in Brazilian savannah and harvested in different seasons, *Journal of the Science of Food and Agriculture* **92** (2012) 831-838.
- [90] Rababah, T.M., Ereifej, K.I. und Howard, L.R., Effect of ascorbic acid and dehydration on concentrations of total phenolics, antioxidant capacity, anthocyanins, and color in fruits, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53** (2005) 4444-4447.
- [91] Tulipani, S., Marzban, G., Herndl, A., Laimer, M., Mezzetti, B. und Battino, M., Influence of environmental and genetic factors on health-related compounds in strawberry, *Food Chemistry* **124** (2011) 906-913.
- [92] Tabart, J., Kevers, C., Pincemail, J., Defraigne, J.O. und Dommes, J., Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests, *Food Chemistry* **113** (2009) 1226-1233.
- [93] Seeram, N.P., Aviram, M., Zhang, Y., Henning, S.M., Feng, L., Dreher, M. und Heber, D., Comparison of antioxidant potency of commonly consumed polyphenol-rich beverages in the United States, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56** (2008) 1415-1422.
- [94] Aaby, K., Skrede, G. und Wrolstad, R.E., Phenolic composition and antioxidant activities in flesh and achenes of strawberries (*Fragaria x ananassa*), *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53** (2005) 4032-4040.
- [95] Cheel, J., Theoduloz, C., Rodriguez, J.A., Caligari, P.D.S. und Schmeda-Hirschmann, G., Free radical scavenging activity and phenolic content in achenes and thalamus from *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis*, *F. vesca* and *F. x ananassa* cv. Chandler, *Food Chemistry* **102** (2007) 36-44.
- [96] Cheel, J., Theoduloz, C., Rodriguez, J.A., Saud, G., Caligari, P.D.S. und Schmeda-Hirschmann, G., E-Cinnamic acid derivatives and phenolics from Chilean strawberry fruits, *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53** (2005) 8512-8518.
- [97] Fait, A., Hanhineva, K., Beleggia, R., Dai, N., Rogachev, I., Nikiforova, V.J., Fernie, A.R. und Aharoni, A., Reconfiguration of the achene and receptacle metabolic networks during strawberry fruit development, *Plant Physiology* **148** (2008) 730-750.
- [98] Griesser, M., Vitzthum, F., Fink, B., Bellido, M.L., Raasch, C., Munoz-Blanco, J. und Schwab, W., Multi-substrate flavonol *O*-glucosyltransferases from strawberry (*Fragaria x ananassa*) achene and receptacle, *Journal of Experimental Botany* **59** (2008) 2611-2625.

- [99] Treutter, D., Significance of flavonoids in plant resistance and enhancement of their biosynthesis, *Plant biology* **7** (2005) 581-591.
- [100] Tsao, R., Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols, *Nutrients* **2** (2010) 1231-1246.
- [101] Halbwirth, H., Puhl, I., Haas, U., Jezik, K., Treutter, D. und Stich, K., Two-phase flavonoid formation in developing strawberry (*Fragaria x ananassa*) fruit, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54** (2006) 1479-1485.
- [102] Almeida, J.R.M., D'Amico, E., Preuss, A., Carbone, F., de Vos, C.H.R., Deiml, B., Mourgues, F., Perrotta, G., Fischer, T.C., Bovy, A.G., Martens, S. und Rosati, C., Characterization of major enzymes and genes involved in flavonoid and proanthocyanidin biosynthesis during fruit development in strawberry (*Fragaria x ananassa*), *Archives of Biochemistry and Biophysics* **465** (2007) 61-71.
- [103] Borges, G., Degeneve, A., Mullen, W. und Crozier, A., Identification of flavonoid and phenolic antioxidants in black currants, blueberries, raspberries, red currants, and cranberries, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58** (2009) 3901-3909.
- [104] Castellarin, S., Matthews, M., Di Gaspero, G. und Gambetta, G., Water deficits accelerate ripening and induce changes in gene expression regulating flavonoid biosynthesis in grape berries, *Planta* **227** (2007) 101-112.
- [105] Bordonaba, J.G., Crespo, P. und Terry, L.A., A new acetonitrile-free mobile phase for HPLC-DAD determination of individual anthocyanins in blackcurrant and strawberry fruits: A comparison and validation study, *Food Chemistry* **129** (2011) 1265-1273.
- [106] Jaakola, L., Määttä-Riihinen, K.R., Kärenlampi, S. und Hohtola, A., Activation of flavonoid biosynthesis by solar radiation in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) leaves, *Planta* **218** (2004) 721-728.
- [107] Lunkenbein, S., Bellido, M.L., Aharoni, A., Salentijn, E.M.J., Kaldenhoff, R., Coiner, H., Munoz-Blanco, J. und Schwab, W., Cinnamate metabolism in ripening fruit. characterization of a UDP-glucose:cinnamate glucosyltransferase from strawberry, *Plant Physiology* **140** (2006) 1047-1058.
- [108] Griesser, M., Hoffmann, T., Bellido, M.L., Rosati, C., Fink, B., Kurtzer, R., Aharoni, A., Munoz-Blanco, J. und Schwab, W., Redirection of flavonoid biosynthesis through the down-regulation of an anthocyanidin glucosyltransferase in ripening strawberry fruit, *Plant Physiology* **146** (2008) 1528-1539.
- [109] Hanhineva, K., Rogachev, I., Kokko, H.I., Mintz-Oron, S., Venger, I., Kärenlampi, S. und Aharoni, A., Non-targeted analysis of spatial metabolite composition in strawberry (*Fragaria x ananassa*) flowers, *Phytochemistry* **69** (2008) 2463-2481.
- [110] Olsson, M.E., Ekvall, J., Gustavsson, K.E., Nilsson, J., Pillai, D., Sjöholm, I., Svensson, U., Akesson, B. und Nyman, M.G.L., Antioxidants, low molecular weight carbohydrates, and total antioxidant capacity in strawberries (*Fragaria x ananassa*): Effects of cultivar, ripening, and storage, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52** (2004) 2490-2498.
- [111] Schäfer, L.C., Untersuchungen zu bioaktiven Inhaltsstoffen der Erdbeere in Abhängigkeit des Reifegrades - *Bachelorarbeit, Universität Gießen, Fachbereich 09: Agrarwissenschaften, Ökotrophologie und Umweltmanagement* (2010)
- [112] Robert Koch Institut, Obst- und Gemüsekonsum heute [Gesundheitsberichterstattung - GBE kompakt, September 2011], *GBE Kompakt* (2011).
- [113] Wang, H., Cao, G. und Prior, R.L.R., Total antioxidant capacity of fruits, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **44** (1996) 701-705.
- [114] Garcia-Alonso, M., de Pascual-Teresa, S., Santos-Buelga, C. und Rivas-Gonzalo, J.C., Evaluation of the antioxidant properties of fruits, *Food Chemistry* **84** (2004) 13-18.

- [115] Seeram, N.P., Berry fruits for cancer prevention: Current status and future prospects, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56** (2008) 630-635.
- [116] Neveu, V., Perez-Jimenez, J., Vos, F., Crespy, V., du Chaffaut, L., Mennen, L., Knox, C., Eisner, R., Cruz, J., Wishart, D. und Scalbert, A., Phenol-Explorer: an online comprehensive database on polyphenol contents in foods: available at <http://www.phenol-explorer.eu>, *Database* **Version 1.5.2** (2010).
- [117] United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service (ARS): <http://www.ars.usda.gov>; (2012)
- [118] Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A. und Rémésy, C., Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies, *The American Journal of Clinical Nutrition* **81** (2005) 230S-242S.
- [119] McDougall, G.J., Kulkarni, N.N. und Stewart, D., Berry polyphenols inhibit pancreatic lipase activity in vitro, *Food Chemistry* **115** (2009) 193-199.
- [120] McDougall, G.J., Shpiro, F., Dobson, P., Smith, P., Blake, A. und Stewart, D., Different polyphenolic components of soft fruits inhibit α -amylase and α -glucosidase, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53** (2005) 2760-2766.
- [121] Grussu, D., Stewart, D. und McDougall, G.J., Berry polyphenols inhibit α -amylase in vitro: Identifying active components in rowanberry and raspberry, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **59** (2011) 2324-2331.
- [122] Giampieri, F., Tulipani, S., Alvarez-Suarez, J.M., Quiles, J.L., Mezzetti, B. und Battino, M., The strawberry: Composition, nutritional quality, and impact on human health, *Nutrition* **28** (2012) 9-19.
- [123] Azodanlou, R., Darbellay, C., Luisier, J.L., Villettaz, J.C. und Amado, R., Quality assessment of strawberries (*Fragaria* Species), *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51** (2003) 715-721.
- [124] Atkinson, C.J., Nestby, R., Ford, Y.Y. und Dodds, P.A.A., Enhancing beneficial antioxidants in fruits: A plant physiological perspective, *BioFactors* **23** (2005) 229-234.
- [125] Hebert, C., Charles, M.T., Gauthier, L., Willemot, C., Khanizadeh, S. und Cousineau, J., Strawberry proanthocyanidins: Biochemical markers for *Botrytis cinerea* resistance and shelf life predictability (Proceedings of the Fourth International Strawberry Symposium, Vols 1 and 2), *Acta Horticulturae* **567** (2002) 659-662.
- [126] Wang, S.Y., Maximizing antioxidants in fruits (Proceedings of the Sixth International Postharvest Symposium), *Acta Horticulturae* **877** (2010) 81-92.
- [127] Ferretti, G., Bacchetti, T., Belleggia, A. und Neri, D., Cherry antioxidants: From farm to table, *Molecules* **15** (2010) 6993-7005.
- [128] Rekika, D., Khanizadeh, S., Deschenes, M., Levasseur, A., Charles, M.T., Tsao, R. und Yang, R., Antioxidant capacity and phenolic content of selected strawberry genotypes, *Hortscience* **40** (2005) 1777-1781.
- [129] Simirgiotis, M.J., Theoduloz, C., Caligari, P.D.S. und Schmeda-Hirschmann, G., Comparison of phenolic composition and antioxidant properties of two native Chilean and one domestic strawberry genotypes, *Food Chemistry* **113** (2009) 377-385.
- [130] Hemavathi, Upadhyaya, C.P., Young, K.E., Akula, N., Kim, H.S., Heung, J.J., Oh, O.M., Aswath, C.R., Chun, S.C., Kim, D.H. und Park, S.W., Over-expression of strawberry d-galacturonic acid reductase in potato leads to accumulation of vitamin C with enhanced abiotic stress tolerance, *Plant Science* **177** (2009) 659-667.
- [131] Capocasa, F., Diamanti, J., Tulipani, S., Battino, M. und Mezzetti, B., Breeding strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) to increase fruit nutritional quality, *BioFactors* **34** (2008) 67-72.

- [132] Martínez-Ballesta, M., López-Pérez, L., Hernández, M., López-Berenguer, C., Fernández-García, N. und Carvajal, M., Agricultural practices for enhanced human health, *Phytochemistry Reviews* **7** (2008) 251-260.
- [133] McDougall, G.J., Martinussen, I., Junttila, O., Verrall, S. und Stewart, D., Assessing the influence of genotype and temperature on polyphenol composition in cloudberry (*Rubus chamaemorus* L.) using a novel mass spectrometric method, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **59** (2011) 10860-10868.
- [134] Terry, L.A., Chope, G.A. und Bordonaba, J.G., Effect of water deficit irrigation and inoculation with *Botrytis cinerea* on strawberry (*Fragaria x ananassa*) fruit quality, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55** (2007) 10812-10819.
- [135] Turhan, E. und Eris, A., Growth and stomatal behaviour of two strawberry cultivars under long-term salinity stress, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* **31** (2007) 55-61.
- [136] Wang, S.Y., Chen, C.T. und Wang, C.Y., The influence of light and maturity on fruit quality and flavonoid content of red raspberries, *Food Chemistry* **112** (2009) 676-684.
- [137] Verheul, M.J., Sønsteby, A. und Grimstad, S.O., Influences of day and night temperatures on flowering of *Fragaria x ananassa* Duch., cvs. Korona and Elsanta, at different photoperiods, *Scientia Horticulturae* **112** (2007) 200-206.
- [138] Åkerström, A., Jaakola, L., Bång, U. und Jäderlund, A., Effects of latitude-related factors and geographical origin on anthocyanidin concentrations in fruits of *Vaccinium myrtillus* L. (bilberries), *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58** (2010) 11939-11945.
- [139] Reyes-Carmona, J., Yousef, G.G., Martínez-Peniche, R.A. und Lila, M.A., Antioxidant capacity of fruit extracts of blackberry (*Rubus* sp.) produced in different climatic regions, *Journal of Food Science* **70** (2005) 497-503.
- [140] Mori, K., Sugaya, S. und Gemma, H., Decreased anthocyanin biosynthesis in grape berries grown under elevated night temperature condition, *Scientia Horticulturae* **105** (2005) 319-330.
- [141] Zheng, J., Yang, B., Tuomasjukka, S., Ou, S. und Kallio, H., Effects of latitude and weather conditions on contents of sugars, fruit acids, and ascorbic acid in black currant (*Ribes nigrum* L.) juice, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57** (2009) 2977-2987.
- [142] Wang, S.Y., Bunce, J.A. und Maas, J.L., Elevated carbon dioxide increases contents of antioxidant compounds in field-grown strawberries, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51** (2003) 4315-4320.
- [143] Wang, S.Y., Chen, C.T., Wang, C.Y. und Chen, P., Resveratrol content in strawberry fruit is affected by preharvest conditions, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55** (2007) 8269-8274.
- [144] Wang, S.Y. und Lin, H.S., Compost as a soil supplement increases the level of antioxidant compounds and oxygen radical absorbance capacity in strawberries, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51** (2003) 6844-6850.
- [145] Awad, M.A., De Jager, A., Dekker, M. und Jongen, W.M.F., Formation of flavonoids and chlorogenic acid in apples as affected by crop load, *Scientia Horticulturae* **91** (2001) 227-237.
- [146] Awad, M.A., Wagenmakers, P.S. und De Jager, A., Effects of light on flavonoid and chlorogenic acid levels in the skin of 'Jonagold' apples, *Scientia Horticulturae* **88** (2001) 289-298.
- [147] Wang, S.Y. und Zheng, W., Effect of plant growth temperature on antioxidant capacity in strawberry, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49** (2001) 4977-4982.
- [148] Keutgen, A.J. und Pawelzik, E., Quality and nutritional value of strawberry fruit under long term salt stress, *Food Chemistry* **107** (2008) 1413-1420.

- [149] Olsson, M.E., Andersson, C.S., Berglund, R.H. und Gustavsson, K.E., Extracts from organically and conventionally cultivated strawberries inhibit cancer cell proliferation in vitro, *Acta Horticulturae* **744** (2007) 189-194.
- [150] Moor, U., Karp, K., Poldma, P. und Pae, A., Cultural systems affect content of anthocyanins and vitamin C in strawberry fruits, *European Journal of Horticultural Science* **70** (2005) 195-201.
- [151] Tsormpatsidis, E., Henbest, R.G.C., Davis, F.J., Battey, N.H., Hadley, P. und Wagstaffe, A., UV irradiance as a major influence on growth, development and secondary products of commercial importance in Lollo Rosso lettuce 'Revolution' grown under polyethylene films, *Environmental and Experimental Botany* **63** (2008) 232-239.
- [152] Heijari, J., Kivimäenpää, M., Hartikainen, H., Julkunen-Tiitto, R. und Wulff, A., Responses of strawberry (*Fragaria x ananassa*) to supplemental UV-B radiation and selenium under field conditions, *Plant and Soil* **282** (2006) 27-39.
- [153] Mitchell, A.E., Hong, Y.J., Koh, E., Barrett, D.M., Bryant, D.E., Denison, R.F. und Kaffka, S., Ten-year comparison of the influence of organic and conventional crop management practices on the content of flavonoids in tomatoes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55** (2007) 6154-6159.
- [154] Hernanz, D., Recamales, A.F., Meléndez-Martínez, A.J., Gonzalez-Miret, M.L. und Heredia, F.J., Assessment of the differences in the phenolic composition of five strawberry cultivars (*Fragaria x ananassa* Duch.) grown in two different soilless systems, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55** (2007) 1846-1852.
- [155] Nitz, G.M., Grubmüller, E., und Schnitzler, W. H., Differential flavonoid response to PAR and UV-B light in chive (*Allium schoenoprasum* L.), *Acta Horticulturae* **659** (2004) 825-830.
- [156] Berli, F., D'Angelo, J., Cavagnaro, B., Bottini, R., Wuilloud, R. und Silva, M.F., Phenolic composition in grape (*Vitis vinifera* L. cv. Malbec) ripened with different solar UV-B radiation levels by capillary zone electrophoresis, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56** (2008) 2892-2898.
- [157] Tsormpatsidis, E., Henbest, R.G.C., Battey, N.H. und Hadley, P., The influence of ultraviolet radiation on growth, photosynthesis and phenolic levels of green and red lettuce: potential for exploiting effects of ultraviolet radiation in a production system, *Annals of applied biology* **156** (2010) 357-366.
- [158] Josuttis, M., Krüger, E. und Dietrich, H., Influence of cultivation techniques on health beneficial components in strawberry, *Acta Horticulturae* **838** (2009) 205-206.
- [159] Andreotti, C., Ravaglia, D. und Costa, G., Effects of fruits load and reflective mulch on phenolic compounds accumulation in nectarine fruit, *European Journal of Horticultural Science* **75** (2010) 53-59.
- [160] Oh, M.M., Carey, E.E. und Rajashekar, C.B., Environmental stresses induce health-promoting phytochemicals in lettuce, *Plant Physiology and Biochemistry* **47** (2009) 578-583.
- [161] Remberg, S.F., Sønsteby, A., Aaby, K. und Heide, O.M., Influence of postflowering temperature on fruit size and chemical composition of glen ample raspberry (*Rubus idaeus* L.), *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58** (2010) 9120-9128.
- [162] Truax, B. und Gagnon, D., Effects of straw and black plastic mulching on the initial growth and nutrition of butternut, white ash and bur oak, *Forest Ecology and Management* **57** (1993) 17-27.
- [163] Josuttis, M., Dietrich, H., Treutter, D., Will, F., Linnemannstöns, L. und Krüger, E., Solar UVB response of bioactives in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch. L.): A comparison of protected and open-field cultivation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58** (2010) 12692-12702.

- [164] Ali, L., Gustafsson, A.K., Svensson, B., Alsanius, B.W. und Olsson, M.E., Influence of fertilization on the content of nutrients and bioactive compounds in Rubus berries and leaves, *Poster presentation (IHC, Lisbon)* (2010).
- [165] Lee, S.K. und Kader, A.A., Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops, *Postharvest Biology and Technology* **20** (2000) 207-220.
- [166] Josuttis, M., Dietrich, H., Patz, C.D. und Krüger, E., Effects of air and soil temperatures on the chemical composition of fruit and agronomic performance in strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.), *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* **86** (2011) 415-421.
- [167] Behn, H., Tittmann, S., Walter, A., Schurr, U., Noga, G. und Ulbrich, A., UV-B transmittance of greenhouse covering materials affects growth and flavonoid content of lettuce seedlings, *European Journal of Horticultural Science* **75** (2010) 259-268.
- [168] Poiroux-Gonord, F., Bidel, L.P.R., Fanciullino, A.L., Gautier, H., Lauri-Lopez, F. und Urban, L., Health benefits of vitamins and secondary metabolites of fruits and vegetables and prospects to increase their concentrations by agronomic approaches, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58** (2010) 12065-12082.
- [169] Fan, L., Dubé, C., Fang, C., Roussel, D., Charles, M.T., Desjardins, Y. und Khanizadeh, S., Effect of production systems on phenolic composition and oxygen radical absorbance capacity of 'Orléans' strawberry, *LWT - Food Science and Technology* **45** (2012) 241-245.
- [170] Kumar, A., Avasthe, R.K., Rameash, K., Pandey, B., Borah, T.R., Denzongpa, R. und Rahman, H., Influence of growth conditions on yield, quality and diseases of strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) var Ofra and Chandler under mid hills of Sikkim Himalaya, *Scientia Horticulturae* **130** (2011) 43-48.
- [171] Kevers, C., Falkowski, M., Tabart, J., Defraigne, J.O., Dommes, J. und Pincemail, J., Evolution of antioxidant capacity during storage of selected fruits and vegetables, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55** (2007) 8596-8603.
- [172] Srivastava, A., Akoh, C.C., Yi, W., Fischer, J. und Krewer, G., Effect of storage conditions on the biological activity of phenolic compounds of blueberry extract packed in glass bottles, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55** (2007) 2705-2713.
- [173] Cordenunsi, B.R., Genovese, M.I., Oliveira do Nascimento, J.R., Hassimotto, N.M.A., Jose dos Santos, R. und Lajolo, F.M., Effects of temperature on the chemical composition and antioxidant activity of three strawberry cultivars, *Food Chemistry* **91** (2005) 113-121.
- [174] Cordenunsi, B.R., Nascimento, J.R.O. und Lajolo, F.M., Physico-chemical changes related to quality of five strawberry fruit cultivars during cool-storage, *Food Chemistry* **83** (2003) 167-173.
- [175] Cantos, E., Garcia-Viguera, C., de Pascual-Teresa, S. und Tomás-Barberán, F.A., Effect of postharvest ultraviolet irradiation on resveratrol and other phenolics of cv. Napoleon table grapes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48** (2000) 4606-4612.
- [176] Gil, M.I., Aguayo, E. und Kader, A.A., Quality changes and nutrient retention in fresh-cut versus whole fruits during storage, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54** (2006) 4284-4296.
- [177] Shin, Y., Liu, R.H., Nock, J.F., Holliday, D. und Watkins, C.B., Temperature and relative humidity effects on quality, total ascorbic acid, phenolics and flavonoid concentrations, and antioxidant activity of strawberry, *Postharvest Biology and Technology* **45** (2007) 349-357.
- [178] Ayala-Zavala, J., Wang, S.Y., Wang, C.Y. und González-Aguilar, G.A., Methyl jasmonate in conjunction with ethanol treatment increases antioxidant capacity, volatile compounds and postharvest life of strawberry fruit, *European Food Research and Technology* **221** (2005) 731-738.

- [179] Erkan, M., Wang, S.Y. und Wang, C.Y., Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and decay in strawberry fruit, *Postharvest Biology and Technology* **48** (2008) 163-171.
- [180] Holcroft, D.M. und Kader, A.A., Controlled atmosphere-induced changes in pH and organic acid metabolism may affect color of stored strawberry fruit, *Postharvest Biology and Technology* **17** (1999) 19-32.
- [181] Shin, Y., Ryu, J.A., Liu, R.H., Nock, J.F. und Watkins, C.B., Harvest maturity, storage temperature and relative humidity affect fruit quality, antioxidant contents and activity, and inhibition of cell proliferation of strawberry fruit, *Postharvest Biology and Technology* **49** (2008) 201-209.
- [182] Solovchenko, A. und Schmitz-Eiberger, M., Significance of skin flavonoids for UV-B-protection in apple fruits, *Journal of Experimental Botany* **54** (2003) 1977-1984.
- [183] Dannehl, D., Huyskens-Keil, S., Eichholz, I., Ulrichs, C. und Schmidt, U., Effects of direct-electric-current on secondary plant compounds and antioxidant activity in harvested tomato fruits (*Solanum lycopersicon L.*), *Food Chemistry* **126** (2011) 157-165.
- [184] Aaby, K., Wrolstad, R.E., Ekeberg, D. und Skrede, G., Polyphenol composition and antioxidant activity in strawberry purees; impact of achene level and storage, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55** (2007) 5156-5166.
- [185] López-Serrano, M. und Ros Barceló, A., Comparative study of the products of the peroxidase-catalyzed and the polyphenoloxidase-catalyzed (+)-catechin oxidation. Their possible implications in strawberry (*Fragaria x ananassa*) browning reactions, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50** (2002) 1218-1224.
- [186] Häkkinen, S.H., Karenlampi, S.O., Mykkanen, H.M. und Törrönen, A.R., Influence of domestic processing and storage on flavonol contents in berries, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48** (2000) 2960-2965.
- [187] Bakker, J., Bridle, P. und Bellworthy, S.J., Strawberry juice colour: A study of the quantitative and qualitative pigment composition of juices from 39 genotypes, *Journal of the Science of Food & Agriculture* (1994).
- [188] Hager, T.J., Howard, L.R. und Prior, R.L.R., Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of processed blackberry products, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56** (2008) 689-695.
- [189] Wu, X., Gu, L., Holden, J., Haytowitz, D.B., Gebhardt, S.E., Beecher, G.R. und Prior, R.L.R., Development of a database for total antioxidant capacity in foods: A preliminary study, *Journal of Food Composition and Analysis* **17** (2004) 407-422.
- [190] Hartmann, A., Patz, C.D., Andlauer, W., Dietrich, H. und Ludwig, M., Influence of processing on quality parameters of strawberries, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56** (2008) 9484-9489.
- [191] Figueiredo, P., George, F., Tatsuzawa, F., Toki, K., Saito, N. und Brouillard, R., New features of intramolecular copigmentation by acylated anthocyanins, *Phytochemistry* **51** (1999) 125-132.
- [192] Sadilowa, E., Stinzinger, F.C. und Carle, R., Thermal degradation of acylated and nonacylated anthocyanins, *Journal of Food Science* **71** (2006) 504-512.
- [193] Kammerer, D., Schillmöller, S., Maier, O., Schieber, A. und Carle, R., Colour stability of canned strawberries using black carrot and elderberry juice concentrates as natural colourants, *European Food Research and Technology* **224** (2007) 667-679.
- [194] Will, F. und Dietrich, H., Optimised processing technique for colour- and cloud-stable plum juices and stability of bioactive substances, *European Food Research and Technology* **223** (2006) 419-425.

- [195] Gössinger, M., Moritz, S., Hermes, M., Wendelin, S., Scherbichler, H., Halbwirth, H., Stich, K. und Berghofer, E., Effects of processing parameters on colour stability of strawberry nectar from puree, *Journal of Food Engineering* **90** (2009) 171-178.
- [196] Aguiló-Aguayo, I., Soliva-Fortuny, R. und Martín-Belloso, O., Avoiding non-enzymatic browning by high-intensity pulsed electric fields in strawberry, tomato and watermelon juices, *Journal of Food Engineering* **92** (2009) 37-43.
- [197] Tiwari, B.K., O'Donnell, C.P., Patras, A., Brunton, N. und Cullen, P.J., Effect of ozone processing on anthocyanins and ascorbic acid degradation of strawberry juice, *Food Chemistry* **113** (2009) 1119-1126.
- [198] Amakura, Y., Umino, Y., Tsuji, S. und Tonogai, Y., Influence of jam processing on the radical scavenging activity and phenolic content in berries, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48** (2000) 6292-6297.
- [199] Oszmianski, J. und Wojdylo, A., Comparative study of phenolic content and antioxidant activity of strawberry puree, clear, and cloudy juices, *European Food Research and Technology* **228** (2009) 623-631.
- [200] Gössinger, M., Ullram, T., Hermes, M., Wendelin, S., Berghold, S., Halbwirth, H., Stich, K. und Berghofer, E., Effects of pre-freezing, puree content and pasteurisation regime on colour stability of strawberry nectar made from puree, *Journal of the Science of Food & Agriculture* **89** (2009) 144-149.
- [201] McDougall, G.J., Dobson, P. und Jordan-Mahy, N., Effect of different cooking regimes on rhubarb polyphenols, *Food Chemistry* **119** (2010) 758-764.
- [202] Marques, K.K., Renfroe, M.H., Brevard, B., Lee, R.E. und Gloeckner, J.W., Differences in antioxidant levels of fresh, frozen and freeze-dried strawberries and strawberry jam, *International Journal of Food Sciences and Nutrition* **61** (2010) 759-769.
- [203] Ordidge, M., García-Marcías, P., Battey, N.H., Gordon, M.H., Hadley, P., John, P., Lovegove, J.A., Vysini, E. und Wagstaffe, A., Phenolic contents of lettuce, strawberry, raspberry, and blueberry crops cultivated under plastic films varying in ultraviolet transparency, *Food Chemistry* **119** (2010) 1224-1227.
- [204] Tsormpatsidis, E., Ordidge, M., Henbest, R.G.C., Wagstaffe, A., Battey, N.H. und Hadley, P., Harvesting fruit of equivalent chronological age and fruit position shows individual effects of UV radiation on aspects of the strawberry ripening process, *Environmental and Experimental Botany* **74** (2011) 178-185.
- [205] Keutgen, A.J. und Pawelzik, E., Modifications of strawberry fruit antioxidant pools and fruit quality under NaCl stress, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55** (2007) 4066-4072.
- [206] Meltsch, B., Wendelin, S., Eder, R., Berghofer, E. und Kreilmayr, I., Sensorische, analytische und physikalische Qualitätsparameter von Erdbeeren unterschiedlicher Produktionssysteme, *Mitteilungen Klosterneuburg* (2007) 153-162.
- [207] Olsson, M.E., Andersson, C.S., Oredsson, S., Berglund, R.H. und Gustavsson, K.E., Antioxidant levels and inhibition of cancer cell proliferation in vitro by extracts from organically and conventionally cultivated strawberries, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54** (2006) 1248-1255.
- [208] Khanizadeh, S., Ehsani-Moghaddam, B. und Levasseur, A., Antioxidant capacity in June-bearing and day-neutral strawberry, *Canadian Journal of Plant Science* **86** (2006) 1387-1390.
- [209] Pincemail, J., Kevers, C., Tabart, J., Defraigne, J.O. und Dommes, J., Cultivars, culture conditions, and harvest time influence phenolic and ascorbic acid contents and antioxidant capacity of strawberry (*Fragaria x ananassa*), *Journal of Food Science* **77** (2012) C205-C210.

- [210] Lunkenbein, S., Coiner, H., deVos, C.H.R., Schaart, J.G., Boone, M.J., Krens, F.A., Schwab, W. und Salentijn, E.M.J., Molecular characterization of a stable antisense chalcone synthase phenotype in strawberry (*Fragaria x ananassa*), *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54** (2006) 2145-2153.
- [211] Munoz, C., Hoffmann, T., Escobar, N.M., Ludemann, F., Botella, M.A., Valpuesta, V. und Schwab, W., The strawberry fruit Fra a allergen functions in flavonoid biosynthesis, *Molecular Plant* **3** (2010) 113-124.
- [212] Hoffmann, T., Kurtzer, R., Skowranek, K., Kießling, P., Fridman, E., Pichersky, E. und Schwab, W., Metabolic engineering in strawberry fruit uncovers a dormant biosynthetic pathway, *Metabolic Engineering* **13** (2011) 527-531.
- [213] transGen, transparenz Gentechnik Pflanzen Landwirtschaft Lebensmittel: www.transgen.de, *Die TransGen Datenbank* (2012).
- [214] Fischer, G., Shah, M., Tubiello, F.N. und van Velhuizen, H., Socio-economic and climate change impacts on agriculture: an integrated assessment, 1990-2080, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **360** (2005) 2067-2083.
- [215] Olesen, J.E. und Bindi, M., Consequences of climate change for European agricultural productivity, land use and policy, *European Journal of Agronomy* **16** (2002) 239-262.
- [216] Howden, S.M., Soussana, J.F., Tubiello, F.N., Chhetri, N., Dunlop, M. und Meinke, H., Adapting agriculture to climate change, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **104** (2007) 19691-19696.
- [217] Ubi, B.E., Honda, C., Bessho, H., Kondo, S., Wada, M., Kobayashi, S. und Moriguchi, T., Expression analysis of anthocyanin biosynthetic genes in apple skin: Effect of UV-B and temperature, *Plant Science* **170** (2006) 571-578.
- [218] Jaakola, L., Maatta, K., Pirttila, A.M., Torronen, R., Karenlampi, S. und Hohtola, A., Expression of genes involved in anthocyanin biosynthesis in relation to anthocyanin, proanthocyanidin, and flavonol levels during bilberry fruit development, *Plant Physiology* **130** (2002) 729-739.
- [219] Rieger, G., Müller, M., Guttenberger, H. und Bucar, F., Influence of altitudinal variation on the content of phenolic compounds in wild populations of *Calluna vulgaris*, *Sambucus nigra*, and *Vaccinium myrtillus*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56** (2008) 9080-9086.
- [220] Martinussen, I., Uleberg, E., McDougall, G.J., Stewart, D. und Juntilla Olavi, Development and quality of cloudberry (*Rubus chamaemorus* L.) as affected by female parent, male parent and temperature, *Journal of Berry Research* **1** (2010) 91-101.
- [221] Hamner, K.C., Bernstein, L. und Maynard, L.A., Effects of light intensity, day length, temperature, and other environmental factors on the ascorbic acid content of tomatoes, *Journal of Nutrition* **29** (1945) 85-97.
- [222] Richardson, A.C., Marsh, K.B., Boldingh, H.L., Pickering, A.H., Bulley, S.M., Frearson, N.J., Ferguson, A.R., Thornber, S.E., Bolitho, K.M. und Macrae, E.A., High growing temperatures reduce fruit carbohydrate and vitamin C in kiwifruit, *Plant, cell and environment* **27** (2004) 423-435.
- [223] Andreotti, C., Ravaglia, D. und Costa, G., Innovative light management to improve production sustainability, overall quality, and the phenolics composition of nectarine (*Prunus persica* cv. *Stark Red Gold*), *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* (2009) 145-149.
- [224] Keller, M. und Hrazdina, G., Interaction of nitrogen availability during bloom and light intensity during veraison. II. Effects on anthocyanin and phenolic development during grape ripening, *American Journal of Enology and Viticulture* **49** (1998) 341-349.

- [225] Dokoozlian, N.K. und Kliewer, W.M., Influence of light on grape berry growth and composition varies during fruit development, *Journal of the American Society for Horticultural Science* **121** (1996) 869-874.
- [226] Kolb, C.A., Kopecký, J., Riederer, M. und Pfündel, E.E., UV screening by phenolics in berries of grapevine (*Vitis vinifera*), *Functional Plant Biology* **30** (2003) 1177-1186.
- [227] Krizek, D.T., Clark, H.D. und Mirecki, R.M., Spectral properties of selected UV-blocking and UV-transmitting covering materials with application for production of high-value crops in high tunnels, *Photochemistry and Photobiology* **81** (2005) 1047-1051.
- [228] Behn, H., Albert, A., Marx, F., Noga, G. und Ulbrich, A., Ultraviolet-B and photosynthetically active radiation interactively affect yield and pattern of monoterpenes in leaves of peppermint (*Mentha x piperita* L.), *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58** (2010) 7361-7367.
- [229] Lähti, A.K., Riihinen, K.R. und Kainulainen, P.S., Analysis of anthocyanin variation in wild populations of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) in Finland, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56** (2008) 190-196.
- [230] Lähti, A.K., Jaakola, L., Riihinen, K.R. und Kainulainen, P.S., Anthocyanin and flavonol variation in bog bilberries (*Vaccinium uliginosum* L.) in Finland, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58** (2010) 427-433.
- [231] Mateus, N., Proença, S., Ribeiro, P., Machado, J.M. und De Freitas, V., Grape and wine polyphenolic composition of red *Vitis vinifera* varieties concerning vineyard altitude, *Ciencia y Tecnologia Alimentaria* **3** (2001) 102-110.
- [232] Mateus, N., Marques, S., Gonçalves, A.C., Machado, J.M. und De Freitas, V., Proanthocyanidin composition of red *Vitis vinifera* varieties from the Douro valley during ripening: Influence of cultivation altitude, *American Journal of Enology and Viticulture* **52** (2001) 115-121.
- [233] Crespo, P., Bordonaba, J.G., Terry, L.A. und Carlen, C., Characterisation of major taste and health-related compounds of four strawberry genotypes grown at different Swiss production sites, *Food Chemistry* **122** (2010) 16-24.
- [234] Hargreaves, J.C., Adl, M.S., Warman, P.R. und Rupasinghe, H.P.V., The effects of organic and conventional nutrient amendments on strawberry cultivation: Fruit yield and quality, *Journal of the Science of Food and Agriculture* **88** (2008) 2669-2675.
- [235] Barroso, M.C.M. und Alvarez, C.E., Toxicity symptoms and tolerance of strawberry to salinity in the irrigation water, *Scientia Horticulturae* **71** (1997) 177-188.
- [236] Keutgen, A.J. und Pawelzik, E., Cultivar-dependent cell wall modification of strawberry fruit under NaCl salinity stress, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55** (2007) 7580-7585.
- [237] Keutgen, A.J. und Pawelzik, E., Impacts of NaCl stress on plant growth and mineral nutrient assimilation in two cultivars of strawberry, *Environmental and Experimental Botany* **65** (2009) 170-176.
- [238] Lieten, P., Strawberry production in Central Europe, *International Journal of Fruit Science* **5** (2006) 91-105.
- [239] Eis, B., Benduhn, B., Pfeiffer, B. und Rueß, F., Anbausysteme und Kulturführung im ökologischen Erdbeer- und Strauchbeerenanbau zur Erhöhung der Bestandessicherheit (incl. Strategien gegen Verunkrautung), *Bundesprogramm ökologischer Landbau FKZ: 03OE087* (2007).
- [240] Linnemannstöns, L., Entwicklungen im geschützten Erdbeerenanbau: http://www.spargel-erdbeerprofi.de/rlverlag_.dll?pageID=479, *Spargel & Erdbeerprofi Online* (2010).

- [241] Paranjpe, A.V., Cantlife, D.J., Lamb, E.M., Stoffella, P.J. und Powell, C., Winter strawberry production in greenhouses using soilless substrates: an alternative to methyl bromide soil fumigation, *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* **116** (2003) 98-105.
- [242] Gliessmann, S.R., Werner, M.R., Swezey, S.L., Caswell, E., Cochran, J. und Rosado-May, F., Conversion to organic strawberry management changes ecological processes, *California Agriculture* **50** (1996) 24-31.
- [243] Millner, P.D., Control of strawberry black root rot with compost socks doi:10.1094/PHP-2006-1016-02-RS., *Plant health Progress Online* (2006).
- [244] Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz, Ökologischer Landbau in Deutschland:
<http://www.bmelv.de/SharedDocs/Standardartikel/Landwirtschaft/Oekolandbau/OekologischerLandbauDeutschland.html>; (2012)
- [245] Bund ökologische Lebensmittelwirtschaft, Zahlen Daten Fakten: Die Bio-Branche 2012,
http://www.boelw.de/uploads/pics/ZDF/ZDF_Endversion_120110.pdf; (2012)
- [246] Pérez, A.G., Sanz, C., Olías, R. und Olías, J.M., Effect of methyl jasmonate on *in vitro* strawberry ripening, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **45** (1997) 3733-3737.
- [247] Garcia-Salas, P., Morales-soto, A., Segura-Carretero, A. und Fernández-Gutiérrez, A., Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples, *Molecules* **15** (2010) 8813-8826.
- [248] Dai, J. und Mumper, R.J., Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties, *Molecules* **15** (2010) 7313-7352.
- [249] Lin, L.Z. und Harnly, J.M., A screening method for the identification of glycosylated flavonoids and other phenolic compounds using a standard analytical approach for all plant materials, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55** (2007) 1084-1096.
- [250] Naczki, M. und Shahidi, F., Extraction and analysis of phenolics in food, *Journal of Chromatography A* **1054** (2004) 95-111.
- [251] Stalikas, C.D., Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids, *Journal of Separation Science* **30** (2007) 3268-3295.
- [252] Böhm, V., Kühnert, S., Rohm, H. und Scholze, G., Improving the nutritional quality of microwave-vacuum dried strawberries: A preliminary study, *Food Science and Technology International* **12** (2006) 67-75.
- [253] Seeram, N.P., Lee, R., Scheuller, H.S. und Heber, D., Identification of phenolic compounds in strawberries by liquid chromatography electrospray ionization mass spectroscopy, *Food Chemistry* **97** (2006) 1-11.
- [254] Kajdžanoska, M., Petreska, J. und Stefova, M., Comparison of different extraction solvent mixtures for characterization of phenolic compounds in strawberries, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **59** (2011) 5272-5278.
- [255] Stewart, D., Deighton, N. und Davies, H.V., Antioxidants in soft fruit, *Scottish Crop Research Institute - Annual Report* (2001) 94-97.
- [256] D'Evoli, L., Tarozzi, A., Hrelia, P., Lugarini, M., Cocchiola, M., Gabrielli, P., Franco, F., Morroni, F., Cantelli-Forti, G. und Lombardi-Boccia, G., Influence of cultivation system on bioactive molecules synthesis in strawberries: Spin-off on antioxidant and antiproliferative activity, *Journal of Food Science* **75** (2010) 94-99.
- [257] Simirgiotis, M.J. und Schmeda-Hirschmann, G., Determination of phenolic composition and antioxidant activity in fruits, rhizomes and leaves of the white strawberry (*Fragaria chiloensis* spp.

- chiloensis* form *chiloensis*) using HPLC-DAD-ESI-MS and free radical quenching techniques, *Journal of Food Composition and Analysis* **23** (2010) 545-553.
- [258] Kafkas, E., Kosar, M., Paydas, S., Kafkas, S. und Baser, K.H.C., Quality characteristics of strawberry genotypes at different maturation stages, *Food Chemistry* **100** (2007) 1229-1236.
- [259] Herrera, M.C. und Luque de Castro, M.D., Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from strawberries prior to liquid chromatographic separation and photodiode array ultraviolet detection, *Journal of Chromatography A* **1100** (2005) 1-7.
- [260] Cerezo, A.B., Cuevas, E., Winterhalter, P., Garcia-Parrilla, M.C. und Troncoso, A.M., Isolation, identification, and antioxidant activity of anthocyanin compounds in Camarosa strawberry, *Food Chemistry* **123** (2010) 574-582.
- [261] Andersen, Ø.M., Fossen, T., Torskangerpoll, K., Fossen, A. und Hauge, U., Anthocyanin from strawberry (*Fragaria x ananassa*) with the novel aglycone, 5-carboxypyranopelargonidin, *Phytochemistry* **65** (2004) 405-410.
- [262] Fossen, T., Rayyan, S. und Andersen, Ø.M., Dimeric anthocyanins from strawberry (*Fragaria ananassa*) consisting of pelargonidin 3-glucoside covalently linked to four flavan-3-ols, *Phytochemistry* **65** (2004) 1421-1428.
- [263] Hagermann, A. E., Tannin Chemistry - <http://www.users.muohio.edu/hagermae/>; (2011)
- [264] Moon, J.K. und Shibamoto, T., Antioxidant assays for plant and food components, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57** (2009) 1655-1666.
- [265] Prior, R.L.R., Wu, X. und Schaich, K., Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53** (2005) 4290-4302.
- [266] Huang, D., Ou, B. und Prior, R.L.R., The chemistry behind antioxidant capacity assays, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53** (2005) 1841-1856.
- [267] Corral-Aguayo, R.D., Yahia, E.M., Carrillo-Lopez, A. und González-Aguilar, G., Correlation between some nutritional components and the total antioxidant capacity measured with six different assays in eight horticultural crops, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56** (2008) 10498-10504.
- [268] Tulipani, S., Mezzetti, B., Capocasa, F., Bompadre, S., Beekwilder, J., de Vos, C.H.R., Capanoglu, E., Bovy, A.G. und Battino, M., Antioxidants, phenolic compounds, and nutritional quality of different strawberry genotypes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56** (2008) 696-704.
- [269] Oszmianski, J. und Wojdylo, A., Comparative study of phenolic content and antioxidant activity of strawberry puree, clear, and cloudy juices, *European Food Research and Technology* **228** (2009) 623-631.
- [270] Skupien, K. und Oszmianski, J., Comparison of six cultivars of strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.) grown in northwest Poland, *European Food Research and Technology* **219** (2004) 66-70.
- [271] Wicklund, T., Rosenfeld, H.J., Martinsen, B.K., Sundfor, M.W., Lea, P., Bruun, T. und Haffner, K., Antioxidant capacity and colour of strawberry jam as influenced by cultivar and storage conditions, *LWT - Food Science and Technology* **38** (2005) 387-391.
- [272] Pérez-Jiménez, J., Arranz, S., Taberner, M., Rubio, M.E., Serrano, J., Goni, I. und Saura-Calixto, F., Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results, *Food Research International* **41** (2008) 274-285.
- [273] Perez-Jimenez, J. und Saura-Calixto, F., Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays, *Food Research International* **39** (2006) 791-800.

- [274] Liu, R.H., Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals, *The American Journal of Clinical Nutrition* **78** (2003) 517S-520S.
- [275] Kähkönen, M.P., Hopia, A.I. und Heinonen, M., Berry phenolics and their antioxidant activity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49** (2001) 4076-4082.
- [276] Zhang, Y., Seeram, N.P., Lee, R., Feng, L. und Heber, D., Isolation and identification of strawberry phenolics with antioxidant and human cancer cell antiproliferative properties, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56** (2008) 670-675.
- [277] Koleva, I.I., Niederländer, H.A.G. und van Beek, T.A., Application of ABTS radical cation for selective on-line detection of radical scavengers in HPLC eluates, *Analytical Chemistry* **73** (2001) 3373-3381.
- [278] Hartzfeld, P.W., Forkner, R., Hunter, M.D. und Hagerman, A.E., Determination of hydrolyzable tannins (gallotannins and ellagitannins) after reaction with potassium iodate, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50** (2002) 1785-1790.
- [279] Zaporozhets, O.A., Krushynska, O.A., Lipkovska, N.A. und Barvinchenko, V.N., A new test method for the evaluation of total antioxidant activity of herbal products, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52** (2003) 21-25.
- [280] Meyers, K.J., Watkins, C.B., Pritts, M.P. und Liu, R.H., Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51** (2003) 6887-6892.
- [281] Giusti, M.M. und R.E.Wrolstad, in: Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy, eds. R.E.Wrolstad, T.E.Acree, H.An, E.A.Decker, M.H.Penner, D.S.Reid, S.J.Schwartz, C.F.Shoemaker, and P.Sporns, *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* (John Wiley & Sons, Inc., New York, 2001) p. 1.
- [282] Wrolstad, R.E., Durst, R.W. und Lee, J., Tracking color and pigment changes in anthocyanin products, *Trends in Food Science & Technology* **16** (2005) 423-428.
- [283] Sakakibara, H., Honda, Y., Nakagawa, S., Ashida, H. und Kanazawa, K., Simultaneous determination of all polyphenols in vegetables, fruits, and teas, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51** (2002) 571-581.
- [284] de Rijke, E., Out, P., Niessen, W.M.A., Ariese, F., Gooijer, C. und Brinkman, U.A.T., Analytical separation and detection methods for flavonoids, *Journal of Chromatography A* **1112** (2006) 31-63.
- [285] Hellström, J.K., Törrönen, A.R. und Mattila, P.H., Proanthocyanidins in common food products of plant origin, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57** (2009) 7899-7906.
- [286] Kennedy, J.A. und Jones, G.P., Analysis of proanthocyanidin cleavage products following acid-catalysis in the presence of excess phloroglucinol, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49** (2001) 1740-1746.
- [287] Gu, L., Kelm, M.A., Hammerstone, J.F., Beecher, G.R., Holden, J., Haytowitz, D.B. und Prior, R.L.R., Screening of foods containing proanthocyanidins and their structural characterization using LC-MS/MS and thiolytic degradation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51** (2003) 7513-7521.
- [288] Treutter, D., Santos-Buelga, C., Gutmann, M. und Kolodziej, H., Identification of flavan-3-ols and procyanidins by high-performance liquid chromatography and chemical reaction detection, *Journal of Chromatography A* **667** (1994) 290-297.
- [289] Dangelmaier, L., Untersuchung der bioaktiven Inhaltsstoffe der Erdbeere in Anhängigkeit von der Fruchtordnung - Bachelorarbeit, Universität Gießen, Fachbereich 09: Agrarwissenschaften, Ökotoxikologie und Umweltmanagement (2009)

- [290] Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J.A. und Prior, R.L.R., High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50** (2002) 4437-4444.
- [291] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. und Rice-Evans, C., Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical Biology and Medicine* **26** (1999) 1231-1237.
- [292] Singleton, V.L., Orthofer R. und Lamuela-Raventós R.M, in: Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent, ed. P.Lester, *Methods in Enzymology Oxidants and Antioxidants Part A* (Academic Press, 1999) 152-178.
- [293] Prior, R.L., Fan, E., Ji, H., Howell, A., Nio, C., Payne, M.J. und Reed, J., Multi-laboratory validation of a standard method for quantifying proanthocyanidins in cranberry powders, *Journal of the Science of Food and Agriculture* **90** (2010) 1473-1478.
- [294] Treutter, D., Chemical reaction detection of catechins and proanthocyanidins with 4-dimethylaminocinnamaldehyde, *Journal of Chromatography A* **467** (1989) 185-193.
- [295] Josuttis, M., Carlen, C., Crespo, P., Nestby, R., Toldam-Andersen, T.B., Dietrich, H. und Krüger, E., A comparison of bioactive compounds of strawberry fruit from Europe affected by genotype and latitude, *Journal of Berry Research* **2** (2012) 73-95.
- [296] Le Mière, J., Hadley, P., Darby, J. und Battey, N.H., The effect of thermal environment, planting date and crown size on growth, development and yield of *Fragaria x ananassa* Duch. cv. Elsanta, *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* **73** (1998) 786-795.
- [297] Miura, H., Yoshida, M. und Yamasaki, A., Effect of temperature on the size of strawberry fruit, *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science* **62** (1994) 769-774.
- [298] Hansen, E. und Waldo, G.F., Ascorbic acid content of small fruits in relation to genetic and environmental factors, *Food Research* **9** (1944) 453-461.
- [299] Nunes, M., Morais, A.M. und Sargent, S.A., Physicochemical changes during strawberry development in the field compared with those that occur in harvested fruit during storage, *Journal of the Science of Food & Agriculture* **86** (2006) 180-190.
- [300] Wang, S.Y. und Camp, M.J., Temperatures after bloom affect plant growth and fruit quality of strawberry, *Scientia Horticulturae* **85** (2000) 183-199.
- [301] Himelrick, D.G., Dozier, W.A. und Akridge, J.R., Effect of mulch type in annual hill strawberry plasticulture systems, *Acta Horticulturae* **348** (1993) 207-212.
- [302] Lament, W.J., Plastic mulches for the production of vegetable crops, *HortTechnology* **3** (1993) 35-39.
- [303] Naumann, W.-D. und D. Seipp, Erdbeeren: Grundlagen für Anbau und Vermarktung Ulmer Eugen Verlag (1989)
- [304] Bordonaba, J.G. und Terry, L.A., Development of a glucose biosensor for rapid assessment of strawberry quality: Relationship between biosensor response and fruit composition, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57** (2009) 8220-8226.
- [305] Wang, S.Y., Galletta, G.J., Camp, M.J. und Kasperbauer, M.J., Mulch types affect fruit quality and composition of two strawberry genotypes, *Hortscience* **33** (1998) 636-640.
- [306] Krieghoff, G., Dammkultur bei Erdbeeren, *Sächsische Landesanstalt für Landwirtschaft - Berichte aus dem Obstbau Schriftenreihe 7. Jahrgang, 8. Heft* (2002) 7-12.

- [307] Neuweiler, R. und Husistein, A., Weiterentwicklung des Dammanbaus bei Erdbeeren und Himbeeren auf sandigem Lehm, *Zeitschrift für Obst- und Weinbau* **5** (2000) 87-90.
- [308] Wang, S.Y., in: Antioxidant capacity and phenolic content of berry fruits as affected by genotype, preharvest conditions, maturity, and postharvest handling, ed. Y.Zhao, *Berry Fruit: Value-Added Products for Health Promotion (Food Science and Technology)* (Routledge Chapman & Hall, 2007) 147-186.
- [309] Krüger, E., Josuttis, M., Nestby, R., Toldam-Andersen, T.B., Carlen, C. und Mezzetti, B., Influence of growing conditions at different latitudes on strawberry growth performance, yield and quality, *Journal of Berry Research* **2** (2012) 143-157.
- [310] Josuttis, M., McDougall, G.J., Verrall, S., Stewart, D. und Krüger, E., Genetic and environmental effects on tannin composition in strawberry (*Fragaria x ananassa*) varieties grown in different European locations, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **61** (2013) 790-800.
- [311] Williner, M.R., Pirovani, M.E. und Güemes, D.R., Ellagic acid content in strawberries of different cultivars and ripening stages, *Journal of the Science of Food & Agriculture* **83** (2003) 842-845.
- [312] Lieten, F., Kinet, J.M. und Bernier, G., Effect of prolonged cold storage on the production capacity of strawberry plants, *Scientia Horticulturae* **60** (1995) 213-219.
- [313] Gross, G.G., in: Biosynthesis of ellagitannins: old ideas and new solutions, ed. S.Quideau, *Chemistry and biology of ellagitannins: An underestimated class of bioactive plant polyphenols* (World Scientific Publishing Co., Singapore, 2009) 94-118.
- [314] Ferdinando, M., Brunetti C., Fini A. und Tattini M., in: Flavonoids as antioxidants in plants under abiotic stresses: Abiotic Stress Responses in Plants, eds. P.Ahmad and M.N.V.Prasad, (Springer New York, 2012) 159-179.
- [315] Beekwilder, J., Jonker, H., Meesters, P., Hall, R.D., van der Meer, I.M. und Ric de Vos, C.H., Antioxidants in raspberry: On-line analysis links antioxidant activity to a diversity of individual metabolites, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53** (2005) 3313-3320.
- [316] Prior, R.L. und Gu, L., Occurrence and biological significance of proanthocyanidins in the American diet, *Phytochemistry* **66** (2005) 2264-2280.
- [317] Josuttis, M., Determination of ellagitannin-diversity in strawberry, *Report: COST-STSM-863-5011* (2009) 1-6.
- [318] Reed, J.D., Krueger, C.G. und Vestling, M.M., MALDI-TOF mass spectrometry of oligomeric food polyphenols, *Phytochemistry* **66** (2005) 2248-2263.
- [319] Josuttis, M., Hofmann, D., Patz, C.D. und Dietrich, H., Testsysteme zur Messung von antioxidativen Inhaltsstoffen: Anwendung, Möglichkeiten und Grenzen - ein Methodenvergleich, *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* **106** (2010) 254-262.
- [320] Nestby, R., Anttonen, M.J., Verheul, M.J. und Karjalainen, R.O., Effect of fruit order, polyethylene mulch colour and early forcing on the fruit quality of tunnel-grown strawberry cv. 'Korona', *European Journal of Horticultural Science* **72** (2007) 164-170.
- [321] Crespo, P., Variability of health and taste promoting compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits, Dissertation, ETH No.19164 (2010)
- [322] Johnson, J.L., Bomser, J.A., Scheerens, J.C. und Giusti, M.M., Effect of black raspberry (*Rubus occidentalis* L.) extract variation conditioned by cultivar, production site, and fruit maturity stage on colon cancer cell proliferation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **59** (2011) 1638-1645.
- [323] United States Department of Agriculture, Agriculture Research Service (ARS): Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) of Selected Foods, Release 2 <http://www.ars.usda.gov/Services/docs.htm?docid=15866>; (2010)

- [324] Russell, W.R., Labat, A., Scobbie, L., Duncan, G.J. und Duthie, G.G., Phenolic acid content of fruits commonly consumed and locally produced in Scotland, *Food Chemistry* **115** (2009) 100-104.

12

Appendix

Appendix I zu Kapitel 5.3

Tab. 12.1:

Variationen von konventionellen Qualitätsparametern während der Saison (Remontierer) im Jahr 2008 und 2009, angeordnet nach der Kalenderwoche.

Kalender- woche	Jahr	lösliche Trockenmasse (°Brix)	Trockenmasse (%)	Gesamtsäure (%)	Zucker/Säure - Verhältnis
27	2008	8,0 ± 0,1 de	9,8 ± 0,2 cd	0,89 ± 0,01 b	9,0 ± 0,2 f
29	2008	7,7 ± 0,4 e	9,0 ± 0,3 f	0,84 ± 0,04 c	9,1 ± 0,5 f
	2009	9,1 ± 0,7 ab	10,3 ± 0,2 ab	0,92 ± 0,07 a	9,5 ± 0,7 ef
31	2008	7,7 ± 0,3 e	8,9 ± 0,3 f	0,81 ± 0,03 d	11,0 ± 0,5 bc
	2009	8,3 ± 0,4 cd	10,5 ± 0,4 ab	0,80 ± 0,04 de	10,9 ± 0,4 bc
33	2008	8,6 ± 0,3 bc	9,8 ± 0,4 cd	0,78 ± 0,03 e	13,3 ± 0,2 a
35	2008	8,8 ± 0,1 bc	9,5 ± 0,2 de	0,81 ± 0,01 d	9,9 ± 0,1 de
	2009	7,0 ± 0,3 f	9,3 ± 0,2 ef	0,77 ± 0,03 e	10,4 ± 0,1 cd
37	2009	7,6 ± 0,1 e	10,1 ± 0,2 bc	0,67 ± 0,01 f	9,1 ± 0,2 f
39	2008	9,3 ± 0,5 a	10,3 ± 0,1 ab	0,70 ± 0,05 f	11,3 ± 0,7 b
	2009	6,5 ± 0,1 f	8,4 ± 0,2 g	0,62 ± 0,01 g	10,4 ± 0,4 cd
Mittel 2008		8,1 a	8,4 a	9,6 a	10,6 a
Mittel 2009		7,6 a	7,7 a	9,7 a	10,1 a

Tab. 12.2:

Variationen der antioxidativen Kapazität während der Saison (Remontierer) im Jahr 2008 und 2009, angeordnet nach der Kalenderwoche.

Kalender- woche	Jahr	Gesamtphenole (µg GAE g ⁻¹)	TEAC (µmol TE g ⁻¹)	ORAC (µmol TE g ⁻¹)
27	2008	2373 ± 97 a	27,2 ± 9,4 ab	48,8 ± 5,8 a
29	2008	1996 ± 31 bc	25,2 ± 3,0 bc	38,9 ± 0,6 c
	2009	2251 ± 58 a	29,2 ± 3,7 a	36,3 ± 0,9 c
31	2008	2050 ± 153 b	25,5 ± 1,7 bc	51,4 ± 2,1 a
	2009	1931 ± 28 bc	27,5 ± 1,7 ab	37,1 ± 0,4 c
33	2008	1849 ± 115 c	22,1 ± 2,1 cd	50,1 ± 0,3 a
35	2008	1960 ± 106 bc	22,3 ± 1,2 cd	40,6 ± 0,1 bc
	2009	1997 ± 109 bc	29,3 ± 0,4 a	41,2 ± 2,0 bc
37	2009	1565 ± 113 d	24,9 ± 3 bc	46,6 ± 0,4 ab
39	2008	1843 ± 20 c	20,7 ± 2,9 d	40,9 ± 0,6 bc
	2009	1921 ± 23 bc	27,8 ± 3,4 ab	40,4 ± 0,9 bc
Mittel 2008		2012 a	23,8 b	45,1 a
Mittel 2009		1933 a	27,7 a	40,3 b

Tab. 12.3:

Variationen von bioaktiven Inhaltsstoffen während der Saison (Remontierer) im Jahr 2008 und 2009, angeordnet nach der Kalenderwoche.

Kalender- woche	Jahr	Vitamin C ($\mu\text{g g}^{-1}$)	PAC ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Ellagsäure nach Hydrolyse ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Gesamt- anthocyane ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Summe ($\mu\text{g g}^{-1}$)
27	2008	610 ± 22 bc	336 ± 12 a	665 ± 22 a	347 ± 18 de	1959 a
29	2008	568 ± 23 cde	294 ± 40 bc	560 ± 5 bc	366 ± 7 cde	1788 ab
	2009	574 ± 58 cde	248 ± 54 ef	590 ± 21 b	406 ± 3 abc	1818 ab
31	2008	601 ± 41 bc	309 ± 29 ab	492 ± 20 cd	465 ± 79 a	1868 ab
	2009	674 ± 47 ab	222 ± 47 f	532 ± 3 bc	416 ± 58 bc	1844 ab
33	2008	695 ± 20 ab	274 ± 34 cde	420 ± 14 d	363 ± 57 cde	1752 ab
35	2008	746 ± 33 a	278 ± 74 cde	438 ± 2 d	389 ± 9 bcd	1851 ab
	2009	650 ± 42 b	286 ± 20 bcd	581 ± 8 b	371 ± 43 cde	1889 ab
37	2009	625 ± 13 b	271 ± 46 cde	428 ± 36 d	326 ± 18 e	1649 b
39	2008	730 ± 30 a	265 ± 50 cde	441 ± 33 d	266 ± 14 f	1702 b
	2009	586 ± 21 cde	254 ± 29 ef	482 ± 11 cd	435 ± 4 ab	1758 ab
Mittel 2008		658 a	293 a	503 a	366 a	1820 a
Mittel 2009		622 a	256 b	523 a	391 a	1791 a

Tab. 12.4:

Variationen der einzelnen Anthocyane während der Saison (Remontierer) im Jahr 2008 und 2009, angeordnet nach der Kalenderwoche.

Kalende- rwoche	Jahr	CYA 3-GLU ($\mu\text{g g}^{-1}$)	PEL 3-GLU ($\mu\text{g g}^{-1}$)	PEL-3-RUT ($\mu\text{g g}^{-1}$)	PEL Derivat ($\mu\text{g g}^{-1}$)	CYA 3 - GLU-MAL ($\mu\text{g g}^{-1}$)	PEL 3-GLU- MAL ($\mu\text{g g}^{-1}$)
27	2008	12,2 ± 1,5 cde	174,9 ± 21,8 bc	15,3 ± 1,7 cd	0,5 ± 0,1 b	2,7 ± 0,1 ab	57,0 ± 7,2 bc
29	2008	11,3 ± 1 de	186,8 ± 8,3 bc	13,4 ± 1,0 de	0,4 ± 0,1 b	1,7 ± 0,3 b	53,1 ± 2,1 bc
	2009	16,6 ± 2 ab	229,8 ± 18,7 a	24,7 ± 2,4 b	1,4 ± 0,3 a	3,0 ± 1,0 ab	40,5 ± 3,2 de
31	2008	13,4 ± 1,3 cd	241,7 ± 18,9 a	16,7 ± 1,6 c	0,7 ± 0,2 b	2,4 ± 0,1 b	64,5 ± 8,5 ab
	2009	18,3 ± 3,4 a	240,2 ± 21,1 a	27,5 ± 2,4 a	1,6 ± 0,2 a	4,9 ± 1,0 a	41,9 ± 2,3 de
33	2008	15,1 ± 1,7 bc	178,0 ± 16,2 bc	15,2 ± 1,4 cd	0,5 ± 0,1 b	2,2 ± 0,4 b	72,3 ± 14,9 a
35	2008	14 ± 0,4 bcd	195,0 ± 22,3 b	13,6 ± 0,8 de	0,6 ± 0,1 b	2,2 ± 0,1 b	61,4 ± 3,7 ab
	2009	10,2 ± 0,9 e	188,4 ± 17,2 b	17,8 ± 0,8 c	0,6 ± 0,1 b	2,3 ± 0,4 b	47,1 ± 3,3 cd
37	2009	10,0 ± 1,8 e	170,9 ± 16,9 bc	12,3 ± 0,8 e	0,5 ± 0,1 b	1,6 ± 0,1 b	47,5 ± 8,9 cd
39	2008	9,1 ± 1,3 e	145,7 ± 9,2 c	8,7 ± 0,9 f	0,4 ± 0,3 b	1,1 ± 0,1 b	37,1 ± 4,8 e
	2009	9,7 ± 1,4 e	245,2 ± 12,3 a	13,0 ± 0,8 de	0,7 ± 0,1 b	1,5 ± 0,1 b	43,8 ± 5,4 de
Mittel 2008		12,5 a	187,0 b	13,8 b	0,5 b	2,1 a	57,6 a
Mittel 2009		13,0 a	214,9 a	19,0 a	1,0 a	2,7 a	44,2 b

Abkürzungen: Pelargonidin-3-O-malonylglucosid (PEL 3-GLU-MAL), Cyanidin-3-O-malonylglucosid (CYA 3-GLU-MAL), Pelargoninderivat (PEL Derivat), Pelargonidin-3-O-glucosid (PEL 3-GLU), Cyanidin-3-O-glucosid (CYA 3-GLU).

Tab. 12.5:
Variationen der farblosen Phenole während der Saison (Remontierer) im Jahr 2008 und 2009, angeordnet nach der Kalenderwoche.

Kalender- woche	Jahr	<i>p</i> -CUM GLU ($\mu\text{g g}^{-1}$)	EA Derivat ($\mu\text{g g}^{-1}$)	QUER-3-GLC ($\mu\text{g g}^{-1}$)	KAE-3-GLU ($\mu\text{g g}^{-1}$)	KAE-3-GLU- MAL ($\mu\text{g g}^{-1}$)
27	2008	11,2 ± 1,5 cd	8,4 ± 1,5 c	33,4 ± 1,7 b	8,2 ± 1,3 abc	2,0 ± 0,1 b
29	2008	8,4 ± 0,4 ef	8,5 ± 0,5 c	27,6 ± 3,2 cd	6,9 ± 0,7 bed	1,8 ± 0,1 b
	2009	12,7 ± 0,6 bc	19,3 ± 1,1 a	24,1 ± 3,1 de	6,1 ± 1,4 cd	2,8 ± 0,2 a
31	2008	12,0 ± 1,1 cd	9,1 ± 1,3 c	39,6 ± 2,7 a	9,3 ± 1,3 a	2,2 ± 0,4 ab
	2009	14,5 ± 2,8 ab	14,8 ± 1,2 b	34,6 ± 4,8 ab	7,6 ± 0,8 abc	2,9 ± 0,5 ab
33	2008	9,8 ± 0,7 de	6,4 ± 2,9 c	35,6 ± 4,3 ab	8,7 ± 2,2 ab	1,9 ± 0,9 b
35	2008	13,1 ± 1 bc	7,6 ± 1,8 c	31,2 ± 1,7 bc	7,6 ± 0,4 abc	1,9 ± 0,2 b
	2009	14,9 ± 0,4 a	9,1 ± 1,0 c	25,8 ± 2,1 cde	5,4 ± 0,9 d	1,9 ± 0,2 b
37	2009	11,1 ± 0,6 cd	7,4 ± 1,0 c	24,2 ± 4,3 de	6,1 ± 0,6 cd	2,0 ± 0,2 b
39	2008	7,1 ± 1,1 f	8,3 ± 2,5 c	36,7 ± 3,8 ab	7,3 ± 0,8 bed	2,0 ± 0,2 b
	2009	11,7 ± 0,1 cd	8,6 ± 1,8 c	21,5 ± 1,3 e	6,2 ± 0,4 cd	2,4 ± 0,6 ab
	Mittel 2008	10,3 b	8,0 b	34,0 a	8,0 a	2,0 b
	Mittel 2009	12,9 a	11,8 a	26,0 b	6,3 b	2,4 a

Abkürzungen: Ellagsäure (EA), *p*-Cumaroyl-Glucose (*p*-CUM GLU), Quercetin-3-*O*-glucuronid (QUER 3-GLU), Kämpferol-3-*O*-malonylglucosid (KAE 3-GLU-MAL), Kämpferol-3-*O*-glucosid einschließlich Kämpferol-3-*O*-glucuronid (KAE 3-GLU).

Danksagung

Damit diese Arbeit gelingen konnte, waren viele Menschen in verschiedenen Einrichtungen und Fachgebieten beteiligt, denen ich an dieser Stelle herzlich danken möchte, und ich entschuldige mich an dieser Stelle, dass ich nicht alle namentlich nennen kann. Finanziert wurde die Arbeit durch das Doktorandenkolleg der Hochschule Geisnehiem (ehemals Hochschule RheinMain).

Mein besonderer Dank gilt den beiden Projektleitern der Hochschule Geisenheim Frau Dr. Erika Krüger-Steden, die im Fachgebiet Obstbau forscht, und Herrn Prof. Dr. Helmut Dietrich, der das Fachgebiet Weinanalytik und Getränkeforschung leitet. Beide haben mich während meiner Zeit in Geisenheim und darüber hinaus stets unterstützt und gefördert. Bei Erika Krüger-Steden bedanke ich mich vor allem für die intensive Heranführung an die gartenbauliche Seite des Themas.

Herrn Prof. Dr. Dieter Treutter, der an der Technischen Universität München lehrt und forscht, danke ich für die Übernahme des Koreferates und den effektiven wissenschaftlichen Austausch während der Promotionszeit.

Bei dem gesamten Team des Fachgebiets Obstbau möchte ich mich außerordentlich bedanken. Mit Eurem Arbeitseinsatz beim Versuchsaufbau, der Pflanzung, der mühsamen Erdbeerernte und der Datenerfassung im Rahmen der Versuche wurde die Grundlage für diese Dissertation geschaffen. Vor allem Gerhard Müller möchte ich für die Unterstützung bei Planung und Umsetzung der Versuche sowie für sein wachendes, vorausschauendes Auge danken, wodurch die durchgeführten Versuche so erfolgreich verliefen. Gerold Schmidt danke ich für die Einrichtung, Aufzeichnung und Beiträge u. a. bei Temperatur- und Strahlungsmessungen. Sabine Rasim möchte ich nicht nur für ihre fachliche Kompetenz, sondern auch für die vielen schönen Stunden im gemeinsamen Büro danken.

Claus-Dieter Patz, Frank Will und allen Mitarbeitern des Fachgebiets Weinanalytik danke ich für die Diskussionsbereitschaft und die gute Zusammenarbeit im Labor.

Weiterhin spreche ich allen Partnern des Projekts COST Euroberry 863 meinen Dank aus. Durch die Kooperation mit ihnen konnte ich viele Einblicke gewinnen, die über den Horizont dieser Arbeit hinausgingen. Im Rahmen meines Promotionsprojekts finanzierte COST Euroberry 863 eine Short-Term Scientific Mission, die mir eine Zusammenarbeit mit dem James Hutton Institut (ehemals SCRI Scottish Crop Research Institute) in Invergowrie, Schottland, ermöglichte. Danken möchte ich hier vor allem Gordon McDougall und dem restlichen PPFQ-Team für ihre einmalige Gastfreundlichkeit und eine neue Sichtweise auf bioaktive Inhaltsstoffe.

Ludger Linnemannstöns vom Gartenbauzentrum Köln-Auweiler der Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen danke ich für die unkomplizierte Zusammenarbeit beim Folienhausversuch und für den fachlichen Rat.

Der Stiftung GISELA danke ich für die Bereitstellung finanzieller Mittel zur Anschaffung von PAR-Sensoren.

Weiterhin danke ich Anna Gresch, die mich als fleißige studentische Hilfskraft tatkräftig unterstützte, und ebenso Frederik Polzin, der mir im ersten Versuchsjahr eifrig zur Seite stand. Zugleich danke ich Lisa Schäfer und Lea Dangelmaier, die ihre Bachelorarbeiten im Rahmen dieser Arbeit anfertigten. Selbstverständlich gilt mein Dank auch den Doktoranden der Forschungsanstalt, die dafür sorgten, dass ich eine schöne Zeit in Geisenheim hatte.

Danken möchte ich auch den Fachgebieten Zierpflanzenbau, Gemüsebau und Weinbau der Forschungsanstalt Geisenheim für die gute Zusammenarbeit und Unterstützung bei einzelnen Versuchen. Sie stellten mir Geräte, Gewächshäuser sowie einzelne Wetter- und Klimadaten zur Verfügung.

Meiner Familie, meinen Freunden und allen anderen Menschen, die mich die letzten Jahre begleitet haben, danke ich herzlich für die Geduld und den Glauben an mich. Zu guter Letzt möchte ich meine Dankbarkeit dem mir wichtigsten Menschen aussprechen, der in der letzten Phase meiner Arbeit, wesentlich dazu beigetragen hat, diese fertigzustellen. Deine fachlichen Ratschläge, moralische Unterstützung und lieben Worte haben mich immer wieder motiviert – danke Dennis.

CURRICULUM VITAE

von
Melanie Anke Josuttis (geb. Schultz),
geboren am 20.06.1982
in Eschwege

Beruflicher Werdegang

seit 04.2011	Institut für Produktqualität, Berlin Prüfleiterin Projektmanagement
09.2007–03.2011	Hochschule Geisenheim, Geisenheim Wissenschaftliche Mitarbeiterin Doktorandin in Zusammenarbeit mit der Hochschule Geisenheim und der Technischen Universität München

Ausbildung

06.2007	2. Staatsexamen Abschluss: staatlich geprüfte Lebensmittelchemikerin
05.2006–04.2007	Landesuntersuchungsamt Rheinland-Pfalz, Koblenz und Trier Praktikantin der Lebensmittelchemie Schwerpunkt: chemische Analyse und rechtliche Beurteilung von Lebensmitteln und Bedarfsgegenständen

Studium

10.2001–04.2006	Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Halle Studium der Lebensmittelchemie
04.2006	1. Staatsexamen Abschluss: Diplom-Lebensmittelchemikerin
10.2005–04.2006	Leibniz-Institut für Pflanzenbiochemie, Halle Thema: „ <i>Untersuchungen zur Rolle von Wasserstoff- peroxid bei der Expression des Allenoxidcyclase-Gens und anderen wundinduzierten Genen der Tomate</i> “

Schulausbildung

08.1994–06.2001 06.2001	Graf Stauffenberg-Gymnasium, Osnabrück Abitur
----------------------------	--