

# Einfluss der Höhenlage auf die Inhaltsstoffe bei der Apfelsorte *Golden Delicious* in Südtirol

Influence of altitude on the metabolites of the *Golden Delicious* apple variety in South Tyrol

Influenza dell'altitudine sui metaboliti della varietà di mele *Golden Delicious* in Alto Adige

Elke Kaneppele<sup>1</sup>, Barbara Stürz<sup>1</sup>, Giulia Chitarrini<sup>1</sup>, Daniela Eisenstecken<sup>1</sup>, Oswald Rossi<sup>1</sup>, Peter Robatscher<sup>1</sup>, Angelo Zanella<sup>1</sup>, Michael Oberhuber<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Versuchszentrum Laimburg, Pfatten, Italien

## ABSTRACT

The quality of climacteric fruits, such as apples, depends to a great extent on the right harvesting time and appropriate storage conditions. Furthermore, it is known that the microclimate surrounding fruit trees influences the growth, maturation, and chemical composition of fruits. However, knowledge concerning the chemical composition of apple fruit as affected by orchard elevation is still scarce and thus the understanding of the interplay and influence of these factors on apple fruit quality needs to be improved. The overall goal of the present study was a better understanding of changes in several fruit characteristics of *Golden Delicious clone B* apples, derived from orchards located at different altitudes and harvested at different stages of maturity. Furthermore, it was investigated whether altitude has a statistical influence on the chemical composition of stored apples immediately after ULO storage and after six days of shelf-life. The results of the current work may lead to a better understanding of the impact of harvest date and orchard elevation on the fruit quality and storability of *Golden Delicious clone B*.

## KEYWORDS

*Golden Delicious*, Altitude, Metabolites, Storage, Quality Parameter.

## CITE ARTICLE AS

Kaneppele Elke, Stürz Barbara, Chitarrini Giulia et.al. (2022). Influence of altitude on the metabolites of the *Golden Delicious* apple variety in South Tyrol. Laimburg Journal 04/2022  
[DOI: 10.23796/LJ/2022.004](https://doi.org/10.23796/LJ/2022.004)

## CORRESPONDING AUTHOR

Michael Oberhuber  
Laimburg 6, Pfatten, 39040 Auer (BZ), Italien  
michael.oberhuber@laimburg.it  
+390471969510



Dieses Werk ist lizenziert unter einer [Creative Commons Namensnennung-Nicht kommerziell 4.0 International Lizenz](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Quest'opera è distribuita con [Licenza Creative Commons Attribuzione - Non commerciale 4.0 Internazionale](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

Für alle Abbildungen und Tabellen ohne Nennung des Urhebers gilt: © Versuchszentrum Laimburg.

Per tutte le immagini e tabelle senza menzione dell'artefice vale: © Centro di Sperimentazione Laimburg.

For all figures and tables without mention of the originator applies: © Laimburg Research Centre.

## EINLEITUNG

Der Kulturapfel (*Malus domestica*) ist eine der wichtigsten Baumfrüchte der Welt, begehrt aufgrund seines Geschmacks und seiner Nährstoffe. Die Qualität von Früchten wird über ihre Wirkung auf die menschlichen Sinne definiert. Sie ist die Summe externer und interner Charakteristiken der Frucht [1] und wird letztendlich durch das komplexe Zusammenwirken der chemischen Komponenten des Apfels bestimmt. Die verschiedenen organischen und anorganischen Verbindungen ergeben visuelle Attribute wie Aussehen, Größe, Einheitlichkeit, Farbe und Frische, sowie nicht-visuelle Attribute wie Aroma, Geschmack, Textur, Nähr- und Gesundheitswerte [2]. Die Hauptbestandteile des Apfels sind Wasser, Zucker, Säuren, Pektin, Gerbstoffe, Stärke, Zellulose, Vitamine, Enzyme, Aromen und Phytohormone [2]. Festigkeit und Zuckergehalt sind grundlegende Qualitätsmerkmale und bestimmen unter anderem die Attraktivität von Apfelsorten für die Konsumenten. Organische Säuren sind ein wichtiger Bestandteil des Fruchtgeschmacks und tragen zusammen mit löslichen Zuckern und Aromen zur allgemeinen organoleptischen Qualität des Apfels bei [3]. Die chemische Zusammensetzung des Apfels wird durch eine Vielzahl an Faktoren, wie Anbaulage, Boden, Wasser- und Nährstoffversorgung während der Vegetationsperiode, Witterung, Sorte, Erntezeitpunkt und Lagerung beeinflusst [4], und die Bestimmung des optimalen Erntedatums spielt eine grundlegende Rolle. Das optimale Erntedatum (optimal harvest date, OHD) ist als jener Reifegrad definiert, der unter bestimmten Lagerbedingungen zu einer minimalen Entwicklung von unerwünschten Störungen und einer maximalen Lagerqualität führt [5]. OHD erfordert jedoch einen Kompromiss zwischen dem Lagerpotenzial der Apfelsorte und dem für die Verbraucherakzeptanz erforderlichen Gleichgewicht zwischen Süße, Säure, Aroma, Festigkeit und Farbe. Die Erfassung des optimalen Erntedatums von Apfelsorten erfolgt daher in der Regel auf der Grundlage meteorologischer Bedingungen, der Erfahrung des Produzenten und historischer Daten [6]. Hierfür erfolgen Messungen physikalischer und chemischer Parameter wie Stärkegehalt, Gehalt an löslichen Feststoffen, Festigkeit des Fruchtfleisches und Säuregehalt in der Frucht [6]. Zu den wichtigsten Veränderungen während des Reifeprozesses gehören die Abnahme der Fruchtfleischfestigkeit, Abbau von Stärke, Abnahme der Bitterkeit, Farbverän-

derungen und eine Zunahme der Atmungsrate und der Ethylenproduktion [7]. Verschiedene Sorten reagieren unterschiedlich empfindlich auf bestimmte Lagerungsbedingungen. Um die Haltbarkeit von Äpfeln zu verlängern, wurden eine Reihe von Techniken entwickelt; zwei wesentliche Elemente sind die Senkung der Lagertemperatur und die Modifizierung der Lageratmosphäre (controlled atmosphere, CA). Die Haltbarkeit einiger Apfelsorten kann durch gekühlte Lagerung bei 0 °C um bis zu sechs Monate verlängert werden [8]. Durch Senkung der Lagertemperatur wird die Atmungsrate der Früchte verringert und der Beginn der Ethylenproduktion verlangsamt, wodurch Qualitätsverluste später auftreten [9]. Das Grundprinzip der CA-Lagerung ist die Erhöhung der Kohlenstoffdioxid-Konzentration und die Senkung der Sauerstoff-Konzentration in der Lageratmosphäre, sodass die Ethylenproduktion und die Atmungsrate der Früchte reduziert werden. Die Toleranz gegenüber CA-Bedingungen und somit die optimale atmosphärische Zusammensetzung variiert nach Sorte und Anbauregion [10]. Die Dynamik der Aromabildung hängt von den Standortbedingungen sowie von vielen Vor- und Nacherntefaktoren ab, die eng mit der Fruchtreife verbunden sind. Sie werden durch Vorerntebehandlungen, Erntezeiten und Lagerungsbedingungen und -dauer beeinflusst [11]. Ein besonderer Aspekt der Standortbedingungen ist die Höhenlage, besonders in Berggebieten. Südtirol ist mit 18 538 ha Anbaufläche das größte zusammenhängende Apfelanbauggebiet Europas, das sich von ca. 200-1100 m ü.NN erstreckt. Änderungen in der Höhenlage gehen mit Änderungen in Lichtintensität und Temperatur einher und haben direkten Einfluss auf den Stoffwechsel und somit den Gehalt an mehreren Verbindungen in Früchten. Diese wirken sich wiederum auf die Qualität von Früchten aus [12], weshalb der Einfluss der Standortbedingungen, insbesondere der Höhenlage, auf die Fruchtqualität von Interesse für die Forschung ist. Während der Einfluss einzelner Variablen wie klimatische Bedingungen, Vor- und Nacherntefaktoren umfangreich untersucht sind, gibt es wenige Studien, welche die Höhenlage unter Einbeziehung von markttypischen Lagerbedingungen eingehend untersuchen. In der vorliegenden Arbeit wurde die weltweit meistangebaute Apfelsorte, *Golden Delicious*, in drei Höhenlagen Südtirols während der Reife und Lagerung charakterisiert.

## MATERIAL UND METHODEN

### ÄPFEL

Die Apfelproben (*Golden Delicious*, Klon B) wurden von kommerziell bearbeiteten Obstanlagen (ca. 3550 Bäume/ha, M9 Unterlage) in Südtirol gezogen (Abb. 1). Die Früchte wurden drei verschiedenen Höhenlagen (ca. 225, 650 und 1000 m ü. NN) in jeweils zwei Obstanlagen geerntet und repräsentieren somit „Tallage“ (Anlage 1 1991 angepflanzt und Anlage 2 1994 angepflanzt), „Hügel-lage“ (Anlage 3 1997 angepflanzt und Anlage 4 2010 angepflanzt) und „Berglage“ (Anlage 5 2006 angepflanzt und Anlage 6 2010 angepflanzt). Die Früchte wurden in wöchentlichen Intervallen über fünf Wochen in der Erntesaison 2013 geerntet, um verschiedene Reifeszustände zu erhalten. Die sechs verschiedenen Reifeszustände bestehen aus Äpfeln, welche zum optimalen Erntezeitpunkt (OHD) für eine Langzeitlagerung geerntet wurden, aus Äpfeln welche jeweils eine (OHD-1) und zwei Wochen (OHD-2) vor OHD und aus Äpfeln, welche eine (OHD+1), zwei (OHD+2) und drei (OHD+3) Wochen nach OHD geerntet wurden. Der Reifeszustand wurde mit dem Iod-Stärke-Index [13] bestimmt. Die Früchte, die zu und nach OHD gezogen worden sind, wurden unter kontrollierter Atmosphäre für vier Monate bei 1,3 °C und 95% relativer Feuchtigkeit unter ultra-low oxygen (ULO)-Bedingungen (1% O<sub>2</sub> and 2,5% CO<sub>2</sub>) gelagert. Nach der Lagerung wurden die Früchte für sechs Tage bei Raumtemperatur (20 °C) gelagert (Shelf-life, SL), um die Nachreifung in Geschäften und bei Konsumenten nachzuahmen (ULO+SL).

Von jedem Erntezeitpunkt wurde eine Stichprobe von je fünf Äpfeln pro Obstanlage gezogen. Die Bestimmung von Fruchtfleischfestigkeit, Gesamtzucker, titrierbarer Säure, Einzelzucker und organische Säuren wurde an den Stichproben von beiden Obstanlagen jeder Höhenlage durchgeführt, die Bestimmung des Gesamtpolyphenolgehalts, ausgewählter Polyphenole, Vitamine, Aminosäuren und flüchtige organische Verbindungen (VOC) erfolgte nur an der Stichprobe einer Obstanlage pro Höhenlage.

### MESSUNG DER FRUCHTFLEISCHFESTIGKEIT

Die Fruchtfleischfestigkeit der Äpfel wurde mit einem *TA Plus Texture Analyzer* (Lloyd Instrument, UK) bestimmt. Die Apfelschale wurde entfernt und eine 11 mm Sonde wurde sowohl auf der Sonnen- als auch der

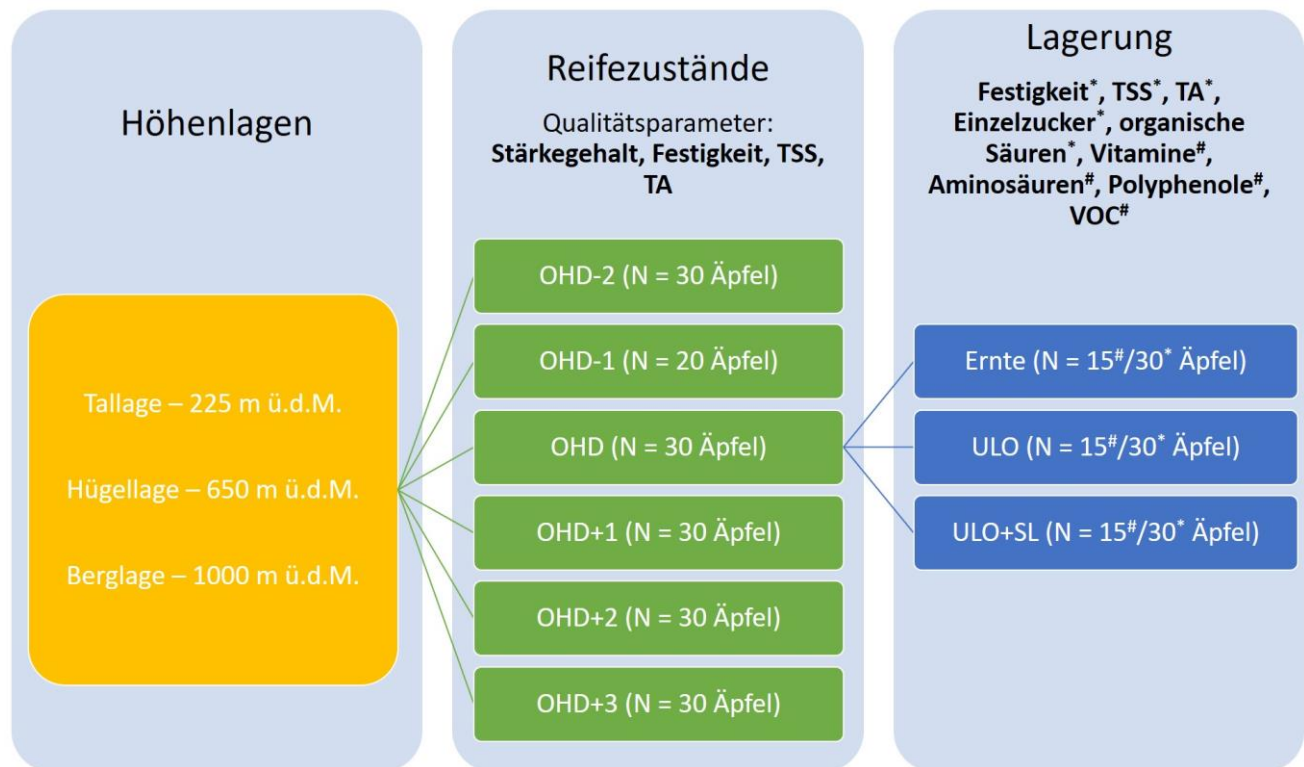


Abb. 1: Schematische Darstellung des Probenahmeplans mit den entsprechend durchgeführten Analysen. OHD = optimal harvest date (Optimaler Erntezeitpunkt), N = Anzahl, TSS = total soluble solids (Refraktometerwert als Maß für den Gesamtzuckeranteil), TA = titratable acidity (titrierbare Säure), VOC = volatile organic compounds (flüchtige organische Verbindungen, Aromastoffe), ULO = ultra-low oxygen Bedingungen, SL = Shelf-life. Messungen gekennzeichnet mit \* wurden an jeweils 30 Äpfeln durchgeführt (zwei Obstanlagen), mit # an 15 (eine Obstanlage). // *Schematic representation of the sampling plan with the corresponding analyzes carried out. OHD = optimal harvest date (optimal harvest time), N = number, TSS = total soluble solids (refractometer value as a measure of the total sugar content), TA = titratable acidity (titratable acid), VOC = volatile organic compounds (aromas), ULO = ultra-low oxygen conditions, SL = shelf-life. Measurements marked with \* were performed on 30 apples each (two locations), with # on 15 (one location).*

Schattenseite der Frucht mit einer Geschwindigkeit von 200 mm/min 8 mm weit in das Fruchtfleisch gedrückt. Die Kraft-Deformationskurve wurde aufgenommen und die Fruchtfleischfestigkeit in kg/cm<sup>2</sup> angegeben.

### PROBENVORBEREITUNG FÜR DIE NASSCHEMISCHEN PARAMETER

Nach der Messung der Fruchtfleischfestigkeit wurde die Apfelschale mit einem mechanischen Apfelschäler (*Keen Chef*) entfernt, das Kernhaus entfernt, und der Apfel in fünf horizontale Scheiben geteilt. Die äquatoriale Scheibe (Scheibendicke = 1,5 cm) eines jeden Apfels wurde sofort in Flüssigstickstoff schockgefroren. Die Apfelscheibe wurde zu einem feinen Pulver vermahlen (*Ika A11*, Deutschland) und bei -80 °C bis zur weiteren Analyse (Stärke, Zuckerkomponenten und Fruchtsäuren) aufbewahrt.

Ein Teil des fein gemahlten Pulvers wurde für die weiteren Analysen (Gesamtpolyphenol-

gehalt, ausgewählte Polyphenole, Aminosäuren, Vitamine und Aromastoffe) gefriergetrocknet (p = 0,1 mbar; t = 0 min, T = -40 °C; in 6,7 min auf -35 °C; T halten für 7,2 min, in 23,9 min auf 10 °C; T halten für 33,9 min, in 40,6 min auf 0 °C; T halten für 41,6 min, in 48,3 min auf 10 °C; T halten für 49,3 min, in 56 min auf 20 °C; T halten für 4320 min).

Die restlichen vier Scheiben wurden mit einem haushaltsüblichen Entsafter (*MP 50*, Braun, Deutschland) bei Raumtemperatur entsaftet, und der Apfelsaft bei 5000 rpm für 5 min bei 4 °C zentrifugiert. Der Überstand wurde bis zur Analyse des Gesamtzuckers, der titrierbaren Säure und des pH-Wertes bei -80 °C gelagert.

### GESAMTZUCKER (TSS), TITRIERBARE SÄURE (TA) UND PH-WERT

Der Gesamtzuckeranteil der Äpfel wurde als °Brix des Apfelsaftes mit einem Refraktometer (Bellingham and Stanley, UK) bei 20 °C bestimmt.

Die Gesamtsäure wurde in frisch extrahiertem und zentrifugiertem Saft durch einen automatischen Titrator (*Titromatic 1S*, Cision, Spanien) bestimmt. Dabei wurden 35 mL Apfelsaft mit 0,33 M NaOH bis zum Endpunkt (pH = 8,2) titriert. Die Gesamtsäure wurde in g/L Apfelsäure angegeben.

### STÄRKEGEHALT

Der Stärkegehalt des fein gemahlten Pulvers (200 mg) wurde mit einem enzymatischen Verfahren, basierend auf der thermostabilen  $\alpha$ -Amylase und Amyloglucosidase (*Total starch assay kit*, Version 2011, Megazyme, Irland) nach Angaben des Herstellers ermittelt und in g/100 g Trockenmasse (TM) ausgedrückt [14].

### ZUCKERKOMPONENTEN UND FRUCHTSÄUREN

200 mg Pulver der Äpfel wurde in 2 mL EtOH (80% v/v) für 20 min bei 25 °C und 750 rpm aufgeschlämmt, zentrifugiert (7000 rpm für 3 min bei 20 °C), der Überstand filtriert

(Macherey-Nagel, Deutschland) und mit Wasser auf 5 mL verdünnt. Diese Lösung wurde für die Analyse der Säuren unverdünnt verwendet und für die Analyse der Zucker 1:20 (v/v) mit Wasser verdünnt.

Fructose, Glucose, Saccharose und Sorbitol wurden mit einem Ionenchromatographen (ICS-5000, Thermo Scientific Dionex, US) mit gepulster amperometrischer Detektion (Arbeitselektrode: Au auf PTFE, Referenzelektrode: pH-Ag/AgCl) bestimmt, während die Fruchtsäuren Apfelsäure und Zitronensäure mit Leitfähigkeitsdetektion ermittelt wurden. Die Auftrennung der Zucker erfolgte über eine *Dionex CarboPac PA1-Säule* (4 × 250 mm; Vorsäule: *Dionex CarboPac PA1 Guard*, 4 × 50 mm, Thermo Scientific, USA) mit einer isokratischen Elution mit 40 mM NaOH und anschließender Regeneration der Säule mit 200 mM NaOH. Die Flussrate betrug 1,2 mL/min, das Injektionsvolumen 20 µL und die Säulentemperatur 30 °C. Die Auftrennung der Säuren erfolgt über eine *Dionex OmniPac PAX-100-Säule* (4 × 250 mm; Vorsäule: *Dionex OmniPac PAX-100 Guard*, 4 × 50 mm, Thermo Scientific, USA) mit einem Laufmittelgradienten (A = H<sub>2</sub>O, B = H<sub>2</sub>O:EtOH:MeOH=72:16:12 v/v, C = 100 mM NaOH, D = 1000 mM NaOH; t = 0, 98% B, 2% C, 0% D; t = 5, 98% B, 2% C, 0% D; t = 10 min, 96% B, 4% C, 0% D; t = 15 min, 96% B, 4% C, 0% D; t = 20 min, 63% B, 37% C, 0% D; t = 28,5 min, 60% B, 40% C, 0% D; t = 31 min, 0% B, 100% C, 0% D; t = 38 min, 0% B, 100% C, 0% D; t = 38,01 min, 0% B, 0% C, 20% D; t = 42 min, 0% B, 0% C, 20% D; t = 42,01 min, 98% B, 2% C, 0% D; t = 52 min, 98% B, 2% C, 0% D) gemäß Stürz [15]. Die Flussrate betrug 1 mL/min, das Injektionsvolumen 20 µL und die Säulentemperatur 30 °C.

Die einzelnen Verbindungen wurden aufgrund ihrer Retentionszeit identifiziert (Vergleich mit reinen Standards) und mit externer Kalibrierung quantifiziert. Dafür wurde die Software *Chromeleon 6.8 Paket* (Thermo Scientific Dionex, USA) verwendet.

## GESAMTPOLYPHENOLGEHALT

Der Gesamtpolyphenolgehalt wurde nach Folin-Ciocalteu photometrisch bestimmt [16]. Die Probenvorbereitung erfolgte durch Extraktion von 25 mg gefriergetrockneter Probe in 1800 µL Extraktionslösung (0,5 g H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> in 50 mL MeOH (80% v/v)) und 30 µL 100 mM wässrigem NaF) unter ständiger Bewegung (1.400 rpm) bei 5 °C für 15 min. 60 µL des Überstands wurden mit einem 0,2 µm PTFE-Filter filtriert und mit 250 µL

Wasser verdünnt. Zur Probe wurden 60 µL 0,4 M *Folin-Ciocalteu-Reagenz* (Sigma Aldrich, USA) hinzugefügt und für 6 min bei 20 °C und 1400 rpm unter Ausschluss von Licht geschüttelt. Im Anschluss wurden 630 µL 0,71 M wässrige Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung zugegeben, für 90 min bei 20 °C und 1400 rpm geschüttelt und die Lösung photometrisch analysiert (740 nm, *UV-VIS-Spektrometer Cary 60 UV-VIS*, Agilent Technologies, USA).

Der Gesamtpolyphenolgehalt wurde mittels externer Kalibrierung mit Gallussäure bestimmt. Dazu wurde das *Cary WINUV Simple Reads Application 5.0.0.999 Software Paket* (Agilent Technologies, USA) verwendet.

## AUSGEWÄHLTE POLYPHENOLE

Die Probenvorbereitung erfolgte wie für die Gesamtpolyphenole. 45 µL des Überstands wurden mit 5 µL interner Standard-Lösung (Malvidin-3-glucosid und Quercetin-4'-O-glucosid: Konz. jeweils 2 mg/L) und mit 50 µL Wasser versetzt.

Die Bestimmung von 16 ausgewählten Polyphenolen unter anderem Phenylpropanoide, Dihydrochalkone, Flavanone, Flavanole und Flavonole erfolgte mit einem Flüssigchromatographen gekoppelt an ein Triplequadrupol-Massenspektrometer (*UHPLC-QqQ, UltiMate 3000 UHPLC TSQ Quantiva*, Thermo Fisher, USA) im sogenannten multiple reaction monitoring (MRM)-Modus (Äpfel aus einer Anlage pro Höhenlage). Die Auftrennung der Einzelpolyphenole erfolgte über eine *HyperSil Gold C18-Säule* (2,1 × 50 mm, 3 µm, Thermo Scientific, USA) mit Gradientenelution gemäß Kaneppele [17] von zwei Laufmitteln (A = H<sub>2</sub>O + 2,5% Ameisensäure (FA) v/v, B = Acetonitril (ACN) + 2,5% FA v/v; t = 0, 2,5% B; t = 1, 2,5% B; t = 10 min, 16,5% B; t = 11,5 min, 16,5% B; t = 12,5 min, 23,5% B; t = 15 min, 55% B; t = 15,5 min, 95% B; t = 17,5 min, 95% B; t = 18 min, 2,5% B; t = 21 min, 2,5% B). Das Injektionsvolumen betrug 5 µL, die Flussrate 0,5 µL/min und die Säulentemperatur 40 °C. Ionisierung: Elektrospray-Ionisation mit Detektion im positiven Modus, Kapillartemperatur: 325 °C, Kapillarspannung: 1500 V, Sheat gas: 40 psi, Auxilliary gas: 15 psi, Sweep gas: 2 psi und Kollisionsgas: 1,5 mTorr.

Die Identifizierung der Polyphenole erfolgte über die Retentionszeit (Vergleich mit Standards) und über die Fragmentierung im Massenspektrometer, die Quantifizierung wurde über eine externe Kalibrierung durchgeführt (*Thermo Xcalibur 3.0.63 und Trace*

*Finder Software Paket*, Thermo Fischer, USA).

## VITAMINE C

Die Probenvorbereitung erfolgte durch Extraktion von 50 mg gefriergetrockneter Probe in 1 mL Extraktionslösung (Lösung aus 8 mL Essigsäure und 3 g Metaphosphorsäure aufgefüllt auf 100 mL Wasser und verdünnt mit 42,6 mL MeOH). Die Suspension wurde geschüttelt (20 s Vortex, 2000 rpm bei RT) und der Überstand mit einem 0,20 µm PTFE-Filter filtriert.

Der Vitamin C-(L-Ascorbinsäure)-Gehalt wurde mit einem Flüssigchromatographen (*1260 Infinity*, Agilent Technologies, US) mit Diodenarray-Detektor (DAD, Detektion bei 260 nm) analysiert. Die Auftrennung erfolgte über eine *Kinetex-Säule* (2,6 µm C18; 4,6 × 100 mm, Phenomenex, USA) mit einer Gradientenelution mit A: 5 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> und B: MeOH (t = 0, 0% B; t = 2,5, 0% B; t = 6 min, 20% B; t = 8 min, 0% B; t = 13 min, 0% B) gemäß Bassi et al. [18]. Die Flussrate betrug 1 mL/min, das Injektionsvolumen 5 µL und die Säulentemperatur 25 °C.

Vitamin C wurde anhand der Retentionszeit (Vergleich zu Standard) identifiziert und mit externer Kalibrierung quantifiziert (*OpenLAB CDS ChemStation Edition for LC&LC/MS 1.8.1 Software Paket*, Agilent Technologies, USA).

## BESTIMMUNG DER AMINOSÄUREN UND VITAMINE B2, B3, B5 UND B6

Für die Analyse der Aminosäuren und der Vitamine B2 (Riboflavin), B3 (Niacin), B5 (Pantothensäure) und B6 (Pyridoxamin) wurden 10 mg gefriergetrocknete Probe in 0,8 mL -30 °C kalter Extraktionslösung (ACN:MeOH: H<sub>2</sub>O=4:4:2 v/v) und 0,2 mL interner Standardlösung (DL-Phenylalanin-3,3-d<sub>2</sub>, L-Lysin-4,4,5,5-d<sub>4</sub> hydrochlorid, L-Glutaminsäure-2,3,3,4,4-d<sub>5</sub>, L-Alanin-2,3,3,3-d<sub>4</sub>: Konz. jeweils 10 mg/L in H<sub>2</sub>O:ACN=1:1 v/v) für 15 min im Ultraschallbad mit kaltem Wasser, das mit Eis auf unter 10 °C gehalten wurde, extrahiert. Die Suspension wurde zentrifugiert (10 000 rpm für 2 min bei 20 °C) und der Überstand aufbewahrt. Der Rückstand wurde nochmals mit 1 mL -30 °C kalter Extraktionslösung für 15 min extrahiert, zentrifugiert und die Überstände vereinigt.

Die Messung erfolgte mit einem UHPLC-QqQ (*UltiMate 3000 UHPLC TSQ Quantiva*, Thermo Fisher, US) im MRM-Modus. Die

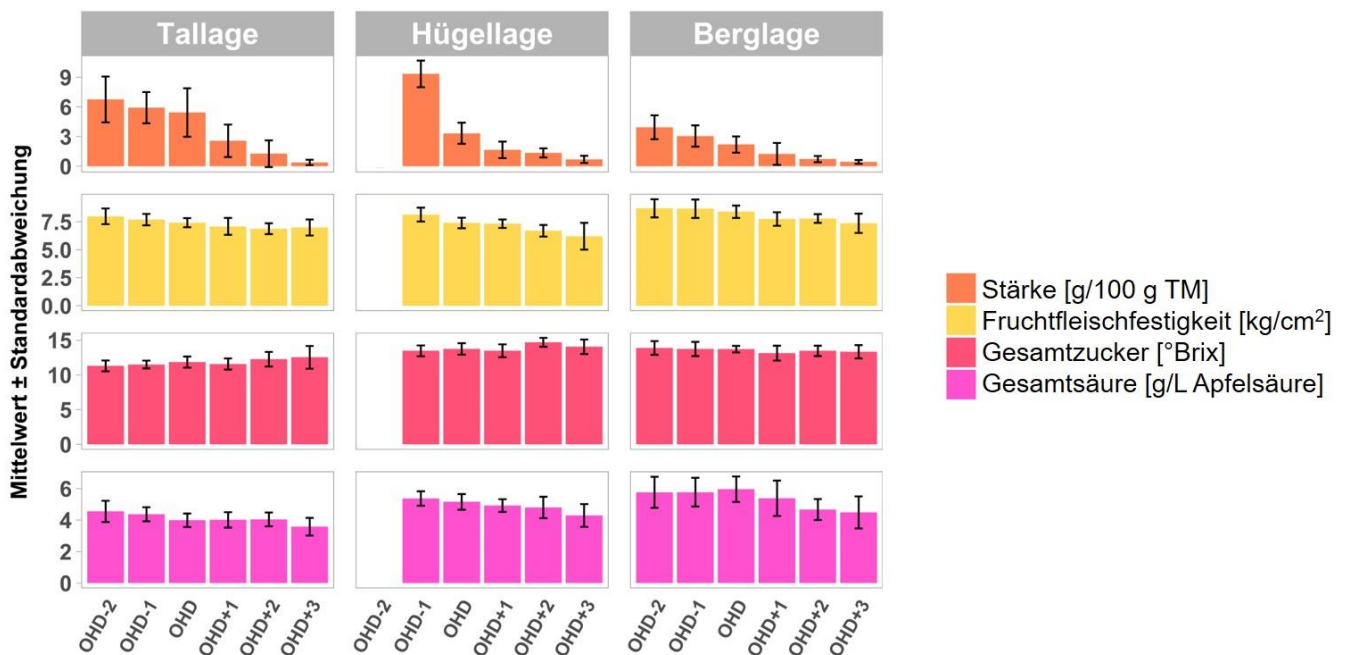


Abb. 2: Verlauf von Stärke, Fruchtfleischfestigkeit, Gesamtzucker und Gesamtsäure während der Reifung // *Course of starch, pulp firmness, total sugar, and total acidity during ripening.*

Auftrennung der Metaboliten basiert auf einer Methode von Paglia et al. [19] mit einigen Änderungen und erfolgt mit hydrophiler Interaktionschromatographie (HILIC) (*Acquity BEH Amide* 2,1 x 150 mm, 1,7  $\mu\text{m}$  gekoppelt mit einer *ACQUITY UPLC BEH Amide VanGuard Vorsäule*, 130  $\text{\AA}$ , 1,7  $\mu\text{m}$ , 2,1 mm x 5 mm, Waters, USA) bei 45 °C. Die Laufmittel sind A:  $\text{H}_2\text{O} + 0,1\% \text{FA}$  und B:  $\text{ACN} + 0,1\% \text{FA}$ . Die Flussrate war 400  $\mu\text{L}/\text{min}$ . Der Gradient war: t = 0 min, 99% B; t = 0,1 min, 99% B; t = 7 min, 30% B; t = 7,1 min, 99% B; t = 10 min, 99% B. Der automatische Probengeber war auf 4 °C eingestellt und das Injektionsvolumen betrug 2  $\mu\text{L}$ . Ionisierung: Elektrospray-Ionisation mit Detektion erfolgt im positiven (Kapillarspannung: 3200 V) und negativen (Kapillarspannung: 3500 V) Modus, Kapillartemperatur: 325 °C, Sheat gas: 40 psi, Auxilliary gas: 10 psi, Sweep gas: 2 psi und Kollisionsgas: 1,5 mTorr.

## FLÜCHTIGE ORGANISCHE VERBINDUNGEN

Die flüchtigen organischen Verbindungen (volatile organic compounds, VOCs) wurden mit der Headspace-Festphasenmikroextraktion (HS-SPME) extrahiert und mit einem Gaschromatographen gekoppelt an ein Massenspektrometer (GC-MS) bestimmt. 0,3 g gefriergetrocknete Probe wurde in ein 20 mL Glasfläschchen mit 1 mL  $\text{H}_2\text{O}$ , 0,3 g NaCl und 5  $\mu\text{L}$  interner Standardlösung (1-

Heptanol und 2-Octanol: Konz. jeweils 15 mg/L) gegeben. Nach der Methode von Aprea et al. [20] wurden die Lösungen 10 min lang bei 40 °C geschüttelt (250 rpm) und die VOCs im Headspace 30 min bei 40 °C an einer 2 cm *DVB/CAR/PDMS 50/30  $\mu\text{m}$ -Faser* (Supelco, USA) adsorbiert. Die Desorption, Auftrennung und Detektion der VOCs erfolgte mit einem *GCMS-QP2010 SE Gaschromatographie-Massenspektrometer* (Shimadzu, Japan) mit einer *Kapillar-ZB-WAX-Säule* (30 m x 0,25 mm i.d. x 0,25  $\mu\text{m}$ , Phenomenex, USA). Die Desorption der Verbindungen erfolgte im GC-Einlass bei 250 °C für 5 min. Temperaturgradient: 40 °C für 3 min, erhöht auf 220 °C mit 4 °C/min und gehalten für 1 min; erhöht auf 250 °C mit 10 °C/min und gehalten für 1 min. Als Trägergas diente Helium mit einer Durchflussrate von 1,2 mL/min. Der Massendetektor wurde im Full-Scan-Modus (Massenbereich 40-400 m/z) betrieben, und die Transferline zum MS-System wurde bei 250 °C gehalten. Die Datenverarbeitung erfolgte mittels der *GC-MS Solution SOFTWARE* (Shimadzu, Japan). Die Identifizierung flüchtiger organischer Verbindungen wurde durch den Vergleich von Massenspektren und Retentionsindex unter Verwendung der NIST 2017-Datenbank und der laborinternen Datenbank durchgeführt. Der experimentelle lineare Temperatur-Retentionsindex jeder Verbindung wurde unter Verwendung von n-Alkanen (C8-C20) unter den gleichen experimentellen Bedingungen wie die Proben

berechnet. Die Ergebnisse wurden als Peakflächenverhältnis (Metabolitenfläche/1-Heptanolfäche) ausgedrückt.

## STATISTISCHE AUSWERTUNG

Die Statistik wurde mit R [21] durchgeführt. Es wurde der Wilcoxon-Mann-Whitney-Test mit Bonferroni Korrektur zur statistischen Unterscheidung der Messergebnisse für die drei Höhenlagen angewandt. Für die Hauptkomponentenanalyse wurde die prcomp Funktion verwendet.

## ERGEBNISSE UND DISKUSSION

### ENTWICKLUNG DER QUALITÄTSPARAMETER STÄRKEGEGEHALT, FESTIGKEIT, GESAMTZUCKERGEHALT (TSS) UND TITRIERBARE SÄURE (TA) WÄHREND REIFE UND LAGERUNG

In allen Höhenlagen nahm der Stärkegehalt für die beprobten Erntezeitpunkte erwartungsgemäß während der Reifung ab. Der Stärkegehalt im Apfelfruchtfleisch erreicht mehrere Wochen vor der Ernte den Höchstwert und nimmt dann allmählich ab [22]. Dieser Abbauprozess konnte auch in unseren Untersuchungen beobachtet werden (Abb. 2). Der Verlauf des Stärkeabbaus in den Äpfeln zeigte signifikante ( $p < 0,05$ ) Unterschiede zwischen den Höhenlagen und

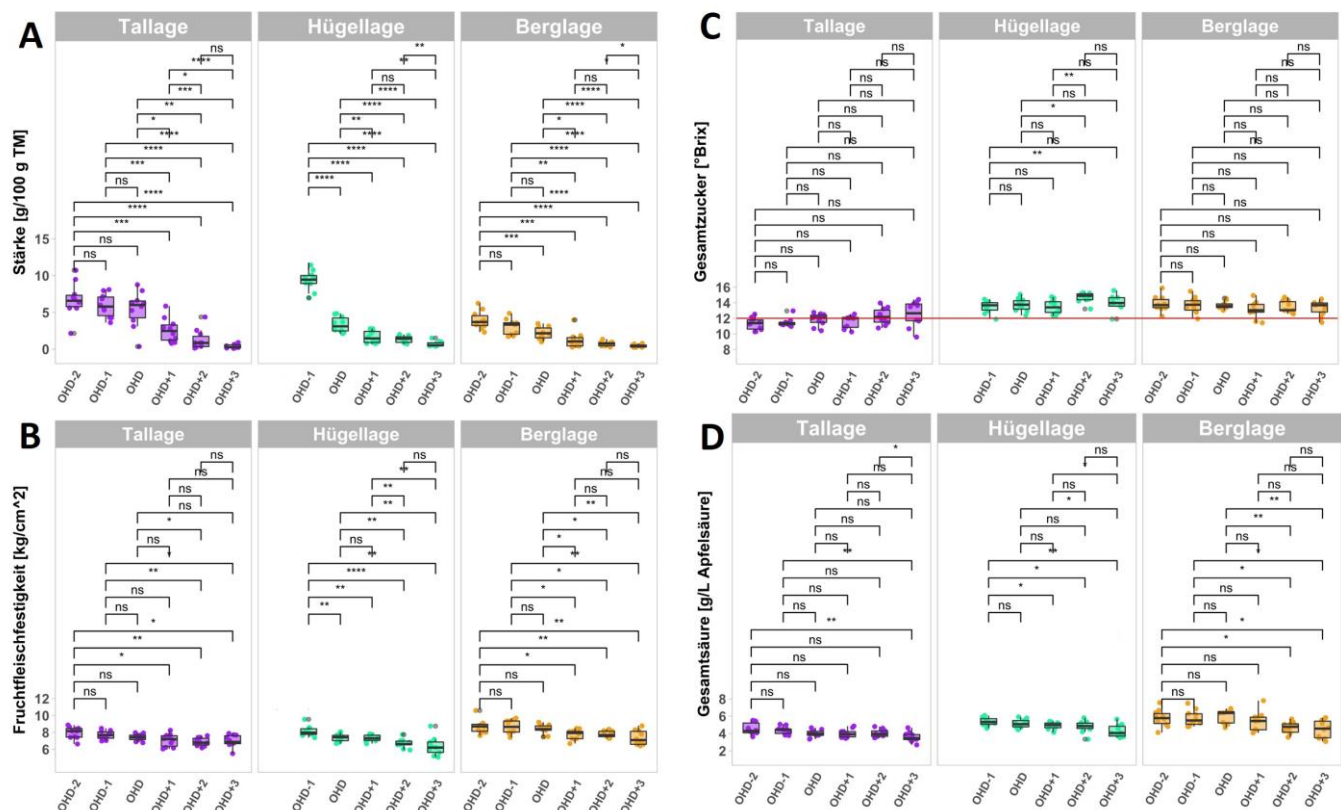


Abb. 3: Verlauf von Stärke (A), Fruchtfleischfestigkeit (B), Gesamtzucker mit dem Schwellenwert von 12 °Brix als rote Linie (C) und Gesamtsäure (D) während der Reifung // Progression of starch (A), pulp firmness (B), total sugar with the threshold of 12 °Brix as a red line (C) and total acidity (D) during ripening.

den Erntezeitpunkten (Abb. 3 A). Früh geerntete Apfelproben (OHD-2 und OHD-1) wiesen mit einem Mittelwert von  $5,8 \pm 2,7$  g/100 g TM einen signifikant höheren Stärkegehalt auf als später geerntete Proben ( $1,1 \pm 1,1$  g/100 g TM). Zum optimalen Erntetermin betrug der Stärkegehalt im Mittel  $3,7 \pm 2,1$  g/100 g TM in allen drei Höhenlagen. Interessanterweise konnte in den Hügellagen (ca. 650 m ü. NN) ein schneller Abbau der Stärke zwischen dem Termin eine Woche vor dem optimalen Erntetermin (OHD-1) und dem optimalen Erntetermin (OHD) beobachtet werden. Der Prozess des Stärkeabbaus beginnt hauptsächlich in den inneren Amyloplasten der Frucht und verläuft dann in einem oft sortenspezifischen Muster nach außen in den Kortextbereich [8]. Aber auch klimatische Bedingungen während der Vegetationsperiode haben einen Einfluss auf den Verlauf des Stärkeabbaus [23].

Die Fruchtfleischfestigkeit ist wichtig für die Lagerfähigkeit von Früchten und Akzeptanz von Äpfeln durch den Verbraucher. Eine geringe Festigkeit wird als Qualitätsmangel wahrgenommen [24]. Die Fruchtfleischfestigkeit nahm in unserem Versuch im Verlauf

der Ernte erwartungsgemäß ab (Abb. 3 B). Zu den unterschiedlichen Erntezeitpunkten gab es signifikante ( $p < 0,05$ ) Unterschiede in den Höhenlagen (Abb. 3 B). Bei OHD-2, OHD-1 und OHD kamen die festesten Äpfel jeweils von der Berglage mit einem Mittelwert von jeweils  $8,70 \pm 0,82$  kg/cm<sup>2</sup>,  $8,67 \pm 0,83$  kg/cm<sup>2</sup> und  $8,40 \pm 0,55$  kg/cm<sup>2</sup>. Bei OHD-1 und OHD waren die Tal- und Hügellage in Bezug auf die Festigkeit nicht unterscheidbar (OHD-1:  $7,69 \pm 0,51$  kg/cm<sup>2</sup> Tallage und  $8,14 \pm 0,62$  kg/cm<sup>2</sup> Hügellage; OHD:  $7,42 \pm 0,41$  kg/cm<sup>2</sup> Tallage und  $7,39 \pm 0,47$  kg/cm<sup>2</sup> Hügellage). War der optimale Erntezeitpunkt überschritten (OHD+1), gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Höhenlagen mehr.

Der TSS-Wert ist ein guter Indikator für den Gesamtzuckergehalt und damit der Süße von Äpfeln [3]. Für *Golden Delicious* Klon B sollte der Zuckergehalt für eine akzeptable Essqualität 12 °Brix überschreiten [3]. Unsere Ergebnisse zeigten, dass der TSS-Wert im Mittelwert in der Tallage die 12 °Brix erst bei OHD erreicht, in den höheren Lagen aber bereits bei OHD-2 überschreitet (Abb. 3 C).

Die titrierbare Säure (TA) als Indikator für die Gesamtsäure unterschied sich signifikant

( $p < 0,05$ ) zwischen den Höhenlagen (Abb. 3 D) und wies in den Tallagen im Mittel den niedrigsten Wert ( $4,1 \pm 0,6$  g/L Apfelsäure) auf, verglichen mit den Hügellagen ( $4,9 \pm 0,7$  g/L Apfelsäure) und Berglagen ( $5,3 \pm 1,1$  g/L Apfelsäure). Außerdem gab es signifikante Unterschiede zwischen den Erntezeitpunkten (Abb. 3 D). Später geerntete Äpfel zeigten erwartungsgemäß einen signifikant niedrigeren TA-Wert ( $p < 0,05$ ) als Apfelproben vor OHD+1 (Abb. 3 D). Die Verwendung von Fruchtsäuren als Atmungssubstrate während der Reifung und Lagerung von Früchten beeinflusst die titrierbare Säure, und es wurde eine signifikante Variation der titrierbaren Säure in Bezug auf die Erntestufen nachgewiesen [25]. Darüber hinaus wurde über eine Tendenz zu einem höheren Säuregehalt in Äpfeln berichtet, die an höheren Standorten angebaut wurden [26].

Hoehn [27] berichtete, dass *Golden Delicious*-Früchte zum Zeitpunkt des Konsums mit akzeptabler Essqualität einen Mindestwert von  $4,5$  kg/cm<sup>2</sup> für die Festigkeit, einen Mindestwert von 12 °Brix für TSS und einen Mindestgehalt von  $3,5$  g/L Apfelsäure für TA erreichen sollten. In unserer Studie erfüllten frisch geerntete Apfelproben unabhängig

vom Erntedatum den genannten Qualitätsstandard für Festigkeit. Der TSS-Wert konnte in Berg- und Hügellagen den kritischen Wert von 12 °Brix größtenteils überschreiten, während in den Tallagen der Wert vor OHD zu gering war. In Bezug auf die TA-Werte in frisch gepflückten Äpfeln lagen die bei OHD+3 geernteten Proben teilweise unter dem kritischen Wert von 3,5 g/L Apfelsäure.

Um den Einfluss der Lagerung auf die Qualitätsparameter zu bewerten, wurden Apfelproben aus allen Anlagen zum optimalen Erntezeitpunkt für Langzeitlagerung (OHD) eingelagert und nach vier Monaten unter kontrollierten Bedingungen (ULO) und nach zusätzlicher sechsstägiger Lagerung bei Raumtemperatur („shelf-life“; ULO+SL) untersucht. Die Festigkeit nahm während der Lagerung bei allen Höhenlagen erwartungsgemäß signifikant ab ( $p < 0,05$ ) (Abb. 4 A), ebenso im shelf-life. Unsere Ergebnisse zeigten auch signifikante Unterschiede zwischen den Höhenlagen. Äpfel aus der Berglage waren während der gesamten Lagerzeit fester als jene in niedrigeren Lagen. Die Festigkeit wird sowohl von der Apfeltextur beeinflusst [28] als auch von Veränderungen in den primären Zellwänden während der Reifung [25]. Es ist bekannt, dass eine Langzeitlagerung unter kontrollierten Bedingungen (ULO) großen Nutzen bei der Aufrechterhaltung der Festigkeit verschiedener Apfelsorten zeigt [29]. Tal- und Hügellage unterschieden sich in keinem Reifestadium signifikant voneinander.

Der Median des Gesamtzuckergehaltes (Abb. 4 B) lag in den Tallagen um bzw. über 12 °Brix und blieb während der Lagerung auf diesem Niveau, während Hügellage- und Berglagen im Median bei 14 °Brix bei der Ernte und zwischen 14 und 15 °Brix während der Lagerung aufwiesen. Diese Werte stimmen mit vorherigen Arbeiten von Suni et al. [30] überein und sind durch die Aufspaltung der Stärke in Zucker [31] oder die Hydrolyse von Zellwandpolysacchariden [32] erklärbar. Äpfel aus der Tallage hatten mit ca. 12 °Brix einen signifikant ( $p < 0,05$ ) niedrigeren TSS-Wert als jene von Tal- und Hügellage entlang der gesamten Lagerung.

Die titrierbare Säure (TA) nahm mit zunehmender Lagerdauer signifikant ab, weiters war sie bei früher geernteten Früchten am höchsten. Bei Früchten, welche unter ULO+SL-Bedingungen gelagert wurden, war sie am geringsten (Abb. 4 C). In der Tallage betrug der Median der titrierbaren Säure ca. 4 g/L Apfelsäure, in der Hügellage lag er

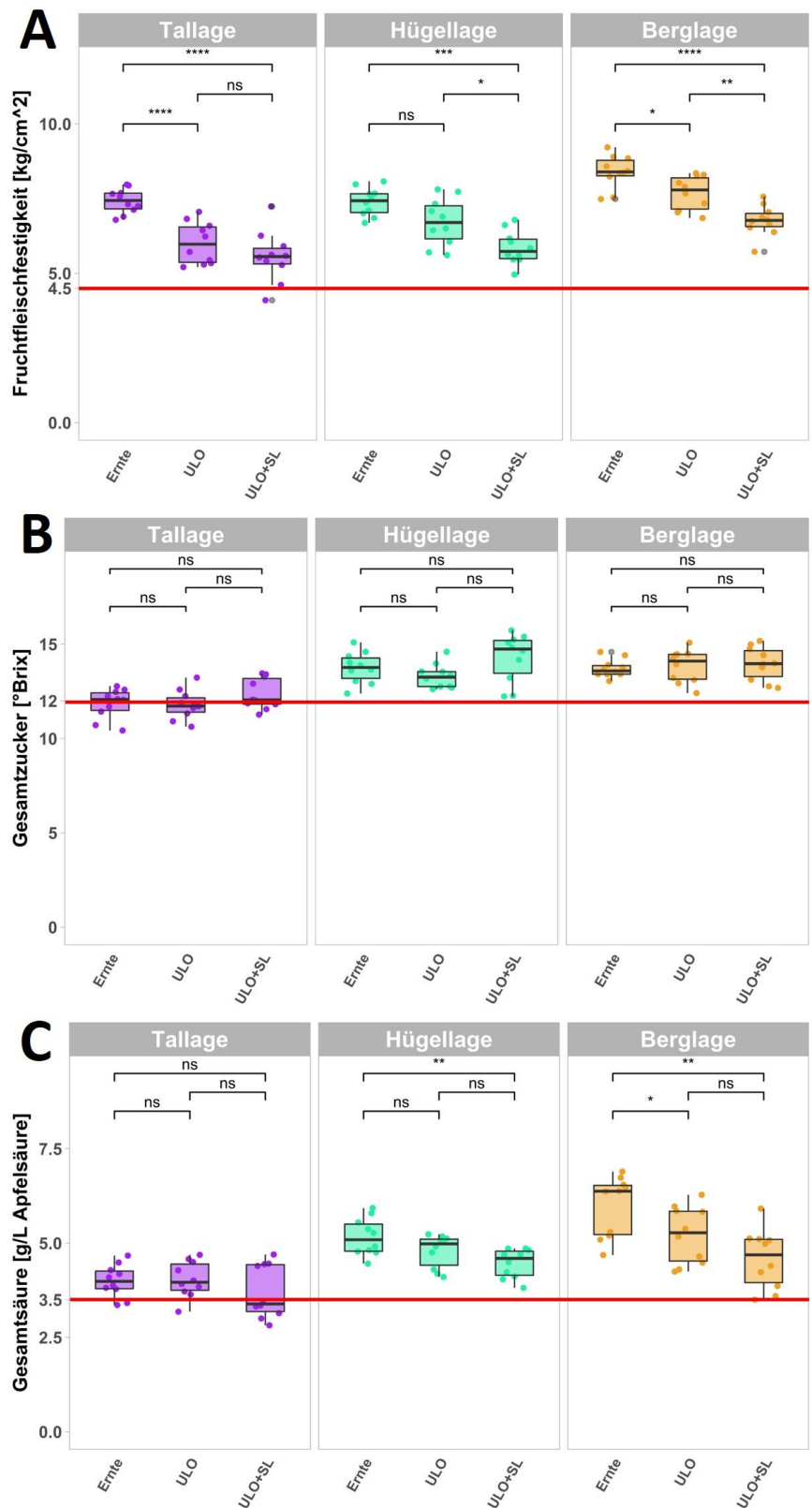


Abb. 4: Verlauf der Qualitätsparameter A) Fruchtfleischfestigkeit, B) TSS und C) TA von der Ernte über Lagerung (ULO) zum shelf-life (ULO+SL) in den drei Höhenlagen. Die rote Linie gibt den Mindestwert für eine akzeptable Essqualität [27] an. // Course of the quality parameters A) pulp firmness, B) TSS and C) TA from harvest to storage (ULO) to shelf-life (ULO+SL) at the three altitudes. The red line indicates the minimum value for acceptable eating quality [27].

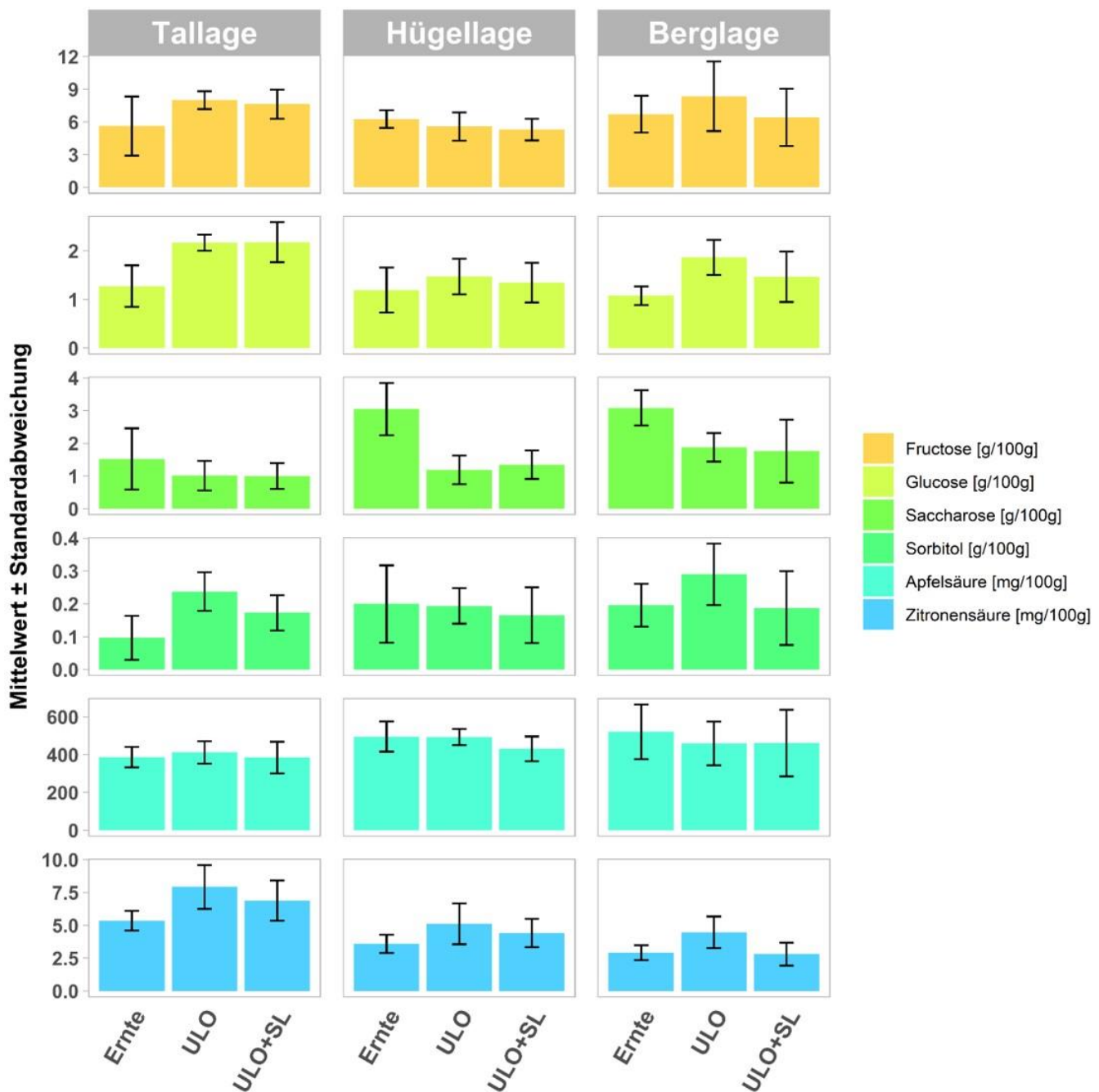


Abb. 5: Verlauf der Einzelzucker und organischen Säuren von der Ernte über Lagerung (ULO) zum shelf-life (ULO+SL) in den drei Höhenlagen. Alle Werte sind als g/100 g oder mg/100 g Frischgewicht angegeben. // Course of the individual sugars and organic acids from harvest to storage (ULO) to shelf-life (ULO+SL) at the three altitudes. All values are given as g/100 g or mg/100 g fresh weight.

bei 5 g/L und in der Berglage bei 6 g/L. Während der Lagerung nahm die TA in der Talage auf 3 g/L und in den Hügel- und Berglagen auf unter 4 g/L Apfelsäure ab. Zum Erntetermin unterschieden sich alle drei Höhenlagen signifikant voneinander, wobei die höchste Lage den höchsten Gehalt aufwies. Nach der Lagerung (ULO und ULO+SL) waren die mittlere Lage und die höchste Lage nicht mehr voneinander zu unterscheiden. Sie unterschieden sich jedoch immer signifikant

von der tiefsten Lage. Die Veränderungen der titrierbaren Säure werden wesentlich durch die Stoffwechselrate beeinflusst, insbesondere durch die Atmung, die organische Säuren verbraucht, wodurch die Säure während der Lagerung abnimmt [33].

#### EINZELZUCKER UND ORGANISCHE SÄUREN DES IDEALEN ERNTETERMINS ZUR ERNTE, NACH LAGERUNG UND SHELF-LIFE

Die Äpfel aus dieser Studie wurden ebenfalls mit Nahinfrarotspektroskopie (NIRS), einer nicht-destruktiven Analysemethode, untersucht. Dabei konnten wir zeigen, dass NIRS die Früchte korrekt nach Berg-, Hügel- und



Tallage zuordnen kann [34]. Die NIRS-Messungen nutzen dazu Signale, die auf die Inhaltsstoffe der äußeren Apfelschichten zurückzuführen sind. Um ein genaueres Bild über die Zusammenhänge zwischen den Inhaltsstoffen und den Höhenlagen zu erhalten, wurden Äpfel aus Berg-, Hügel- und Tallage zum optimalen Erntezeitpunkt für Langzeitlagerung (OHD) und nach der Lagerung auf ihre Zucker- und Säurezusammensetzung untersucht. Zucker wie Glucose, Fructose und Saccharose und organische Säuren

wie Apfelsäure und Zitronensäure sind die wichtigsten Geschmacksträger des Apfels [35]. Die dominierende Zuckerkomponente in den Proben war Fructose, gefolgt von Saccharose, Glucose und Sorbitol (Abb. 5). Der Gehalt an Saccharose nahm während der Lagerung unter ULO-Bedingungen signifikant von 2,6 auf 1,3 g/100 g ab ( $p < 0,05$ ). Proben aus niederen Lagen zeigten den geringsten Gehalt und unterschieden sich bei allen drei Zeitpunkten (OHD, ULO, ULO + shelf-life) signifikant ( $p < 0,05$ ) von Proben aus hohen

Lagen. Unsere Ergebnisse sind im Einklang mit jenen von Suni et al. [30]. Glucose und Sorbitol zeigten einen signifikanten Anstieg ( $p < 0,05$ ) während der Lagerung unter ULO-Bedingungen. Glucose stieg von 1,1 auf 1,8 g/100 g nach der ULO Lagerung an, während sich Sorbitol von anfangs 0,1 auf 0,2 g/100 g erhöhte. Róth et al. [36] berichteten auch über eine Tendenz zu einem erhöhten Glucosespiegel in gelagerten Apfelsorten. Die von uns beobachtete Tendenz zu einem erhöhten Sorbitolspiegel während

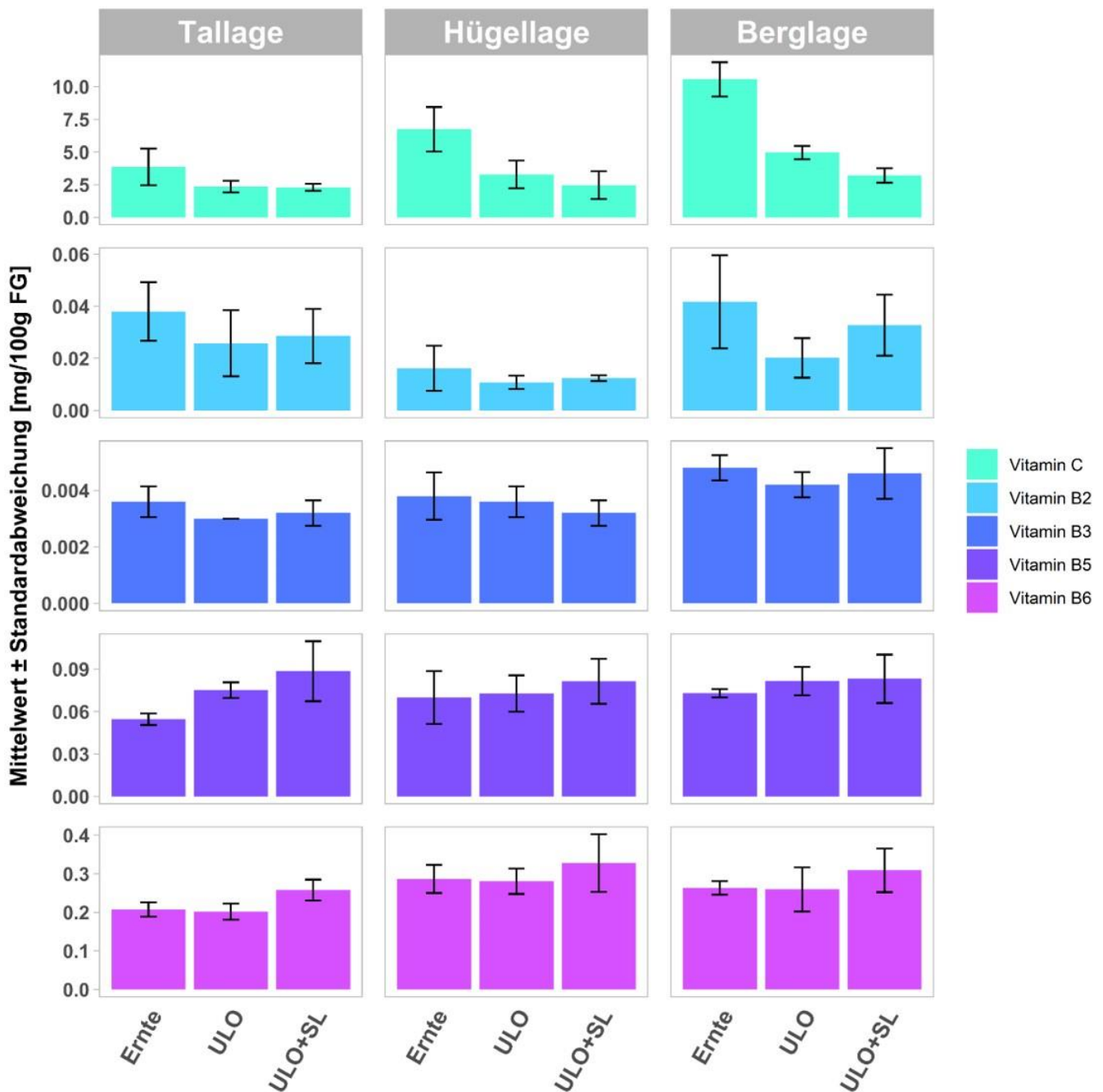


Abb. 6: Verlauf des Vitamingehalts von der Ernte über Lagerung (ULO) zum shelf-life (ULO+SL) in den drei Höhenlagen // Development of the vitamin content from harvest to storage (ULO) to shelf-life (ULO+SL) at the three altitudes.

der Lagerung unter ULO-Bedingungen kann auf die anaerobe Umwandlung von Fructose in Sorbitol zurückgeführt werden [37]. Fructose, die dominierende Zuckerkomponente, entwickelte sich je nach Höhenlage signifikant unterschiedlich ( $p < 0,05$ ): Äpfel aus der Tallage enthielten bei der Ernte im Median am wenigsten Fructose (4,8 g/100 g); dieser Wert stieg aber während der Lagerung auf 7,9 g/100 g (ULO) und 7,7 g/100 g (shelf-life). Früchte aus der Hügellage enthielten dagegen mehr Fructose bei der Ernte (6,2 g/100 g); während der Lagerung mit shelf-life nahm sie leicht auf 5,3 g/100 g ab. Äpfel aus der Berglage steigerten ihren Ernte-Fructose-Gehalt von 6,1 g/100 g auf 7,7 g/100 g nach ULO, im shelf-life, nahm er wieder ab (5,5 g/100 g), wobei bei den Bergäpfeln eine große Streuung der Messwerte auffiel.

Apfelsäure ist die Hauptsäure in Äpfeln, die bei den vorliegenden Analysen etwa 95% des gesamten Säuregehalts betrug. Während der Lagerung unter ULO-Bedingungen und shelf-life verringerte sich der Gehalt an Apfelsäure signifikant ( $p < 0,05$ ): in der Tallage von 383 auf 362 mg/100 g, in der Hügellage von 506 auf 430 mg/100 g und in der

Berglage von 525 auf 399 mg/100 g. Im Gegenzug erhöhte sich der Gehalt an Zitronensäure signifikant ( $p < 0,05$ ) während der Lagerung unter ULO-Bedingungen und nahm dann im shelf-life wieder leicht ab. So lag der Median in der Tallage zur Ernte bei 5,4 mg/100 g stieg auf 7,8 mg/100 g und fiel dann wieder auf 6,5 mg/100 g. Die Hügellageproben zeigten dasselbe Verhalten mit einem Startwert von 3,6 mg/100 g, der nach ULO bei 5,1 mg/100 g lag und schließlich wieder auf 4,5 mg/100 g fiel. Die Proben aus den Berglagen hatten zur Ernte einen Gehalt von 2,9 mg/100 g Zitronensäure, der auf 4,3 mg/100 g anstieg und dann nach dem shelf-life unter das Niveau der Ernte mit 2,7 mg/100 g sank. Diese Ergebnisse stimmen mit denen von Róth et al. [36] überein. Die Konzentrationsunterschiede an Zitronensäure sind von geringer Bedeutung, da diese im Vergleich zur Apfelsäure nur einen sehr kleinen Teil des gesamten organischen Säuregehalts ausmacht. Nichtsdestotrotz sind organische Säuren ein wichtiger Bestandteil des Fruchtgeschmacks und tragen wesentlich zur gesamten organoleptischen Qualität von Apfelfrüchten bei [38]. Für die beiden wichtigsten organischen Säuren, die

in den Proben vorkommen, konnten signifikante ( $p < 0,05$ ) Höhenunterschiede beobachtet werden, wobei Proben aus niedrigen Lagen höhere Mengen an Zitronensäure und geringere Mengen an Apfelsäure aufwiesen als jene aus mittleren oder hohen Lagen.

In Bezug auf die Auswirkung der Höhenlage auf einzelne Zucker wurde in der vorliegenden Studie ein klares Muster für Fructose, Saccharose und Glucose bei der Ernte, nach ULO und ULO + SL beobachtet; Apfelproben aus Hügellagen und Berglagen zeigten statistisch höhere Mengen an Saccharose, aber weniger Fructose und Glucose im Vergleich zu Proben aus Tallagen. Da Sorbitol nur einen geringen Teil des Gesamtzuckeranteils ausmacht, sind die beobachteten Schwankungen des Gehalts von geringerer Bedeutung. Darüber hinaus wurde in der aktuellen Studie ein signifikanter Einfluss der Höhenlage auf den Zitronensäuregehalt beobachtet. Proben aus Tallagen zeigten bei der Ernte, nach ULO und ULO + SL höhere Mengen an Zitronensäure als Proben aus Hügellagen und Berglagen.

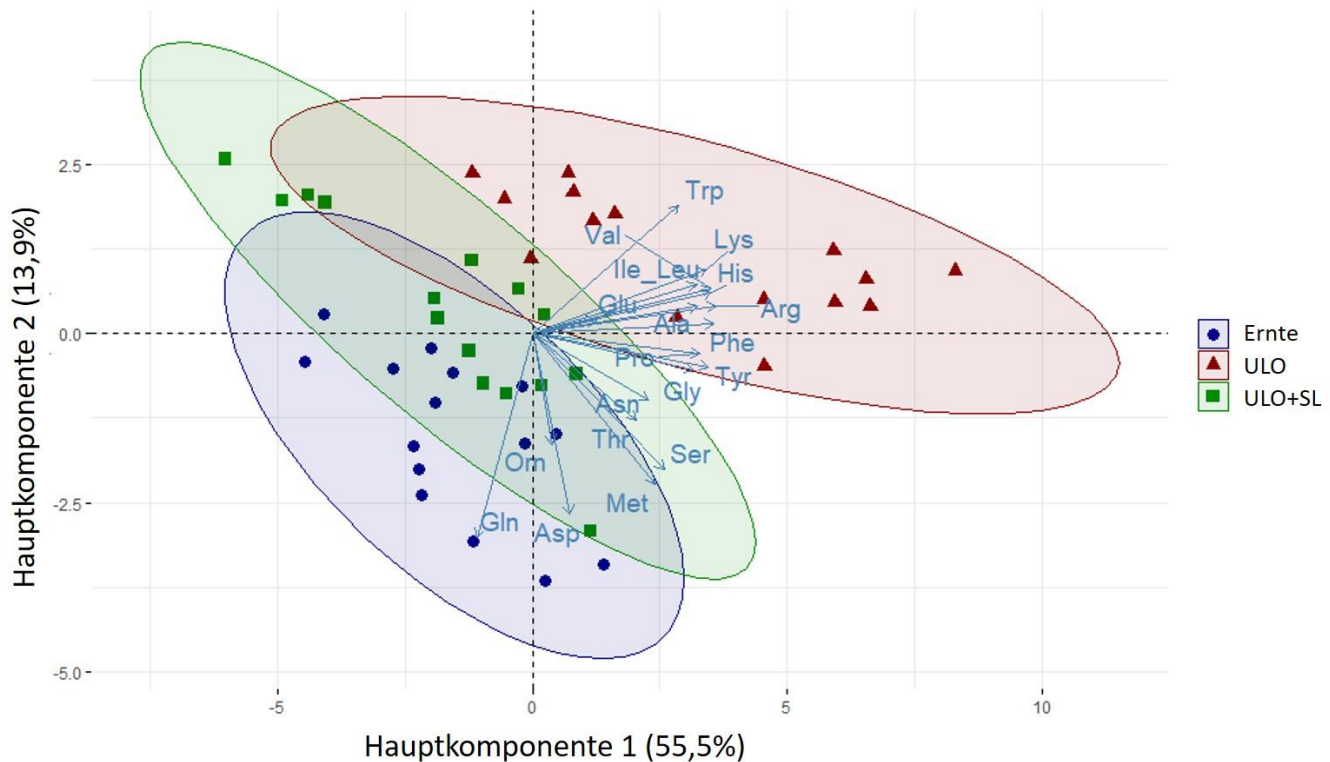


Abb. 7: Biplot der Hauptkomponentenanalyse der 19 untersuchten Aminosäuren für die Proben zum optimalen Erntezeitpunkt (blau), nach ULO-Lagerung (rot) und nach anschließendem shelf-life (grün) // *Biplot of the principal component analysis of the 19 amino acids examined for the samples at the optimal harvest time (blue), after ULO storage (red) and after the subsequent shelf-life (green).*

## VITAMINE UND AMINOSÄUREN

Die in dieser Studie untersuchten Vitamine sind Vitamin B2, Vitamin B3, Vitamin B5, Vitamin B6 und Vitamin C (Abb. 6).

Vitamin B6 kommt von den untersuchten B-Vitaminen mit Werten zwischen 0,2 und 0,4 mg/100 g FG in höchster Konzentration vor, wobei die Proben der Tallage den geringsten Gehalt aufwiesen. Das Vitamin B5 zeigt eine Tendenz zum Anstieg während Lagerung und shelf-life. Die Vitamine B2 und B3 kommen in den geringsten Konzentrationen von 0,007-0,063 mg/100 g FG (B3) bzw. 0,003-0,006 mg/100 g FG (B6) vor und zeigten keine eindeutige Tendenz zur Ab- oder Zunahme während der Lagerung. B-Vitamine sind eine Klasse wasserlöslicher Vitamine, die eine wichtige Rolle im Zellstoffwechsel spielen. Jedes B-Vitamin ist entweder ein Coenzym für wichtige Stoffwechselprozesse oder eine Vorstufe davon [39]. Vitamin B2 (Riboflavin) dient als Cofaktor in der mitochondrialen Atemkette und Vitamin B3 (Nicotinsäure) spielt eine wichtige Rolle bei Energietransferreaktionen im Stoffwechsel von Glucose, Fett und Alkohol [40].

Vitamin B5 (Pantothensäure) ist an der Oxidation von Fettsäuren und Kohlenhydraten beteiligt und Vitamin B6 (Sammelbezeichnung für Pyridoxin, Pyridoxamin und Pyridoxal) dient als Cofaktor für viele Enzyme, vor allem im Aminosäurenstoffwechsel [39].

Die analysierten Früchte wiesen einen Vitamin-C-Gehalt zwischen 1 und 13 mg/100 g FG auf – mit signifikanten ( $p < 0,05$ ) Unterschieden zwischen den Höhenstufen zum optimalen Erntezeitpunkt. Dabei wiesen Proben aus der Tallage mit 3,8 mg/100 g FG den niedrigsten, jene aus Hügellagen mit 6,7 mg/100 g FG einen durchschnittlichen und jene aus Berglagen mit 10,6 mg/100 g FG den höchsten Gehalt auf. Der erhöhte Gehalt an Vitamin C in höher gelegenen Lagen ist im Einklang mit den Ergebnissen von Kumar et al. [12]. Durch die Abnahme des Vitamin C-Gehalts während der Lagerung konnte kein signifikanter ( $p > 0,05$ ) Unterschied zwischen den Proben aus niedriger und mittlerer Lage festgestellt werden. Abschließlich Früchte aus hohen Lagen wiesen einen signifikant ( $p < 0,05$ ) höheren Gehalt auf. Nach Lagerung unter ULO-Bedingungen mit anschließendem shelf-life pendelte sich

der Gehalt bei ungefähr 2,5 mg/100 g FG ein, und es waren keine Unterschiede zwischen den Höhenstufen mehr erkennbar. Eine Abnahme des Vitamin-C-Gehalts unter ULO-Bedingungen konnte auch von Kevers et al. [41] festgestellt werden und stellt damit einen Marker für den oxidativen Stress während der Lagerung [42] dar. Kevers et al. [41] hatten herausgefunden, dass der Gehalt an Vitamin C nach dreimonatiger Lagerung unter ULO, ULO mit 1-Methylcyclopropen-Behandlung und im Kühllager um 80% abnimmt. Im Vergleich dazu zeigten Fawbush et al. [43] eine Abnahme an Vitamin C in Äpfeln im Kühllager, jedoch nicht unter ULO-Lagerung. Das Vitamin C spielt eine große Rolle bei der Abwehr von freien Radikalen, welche eine Peroxidation in gestressten Pflanzen verursachen. Es wird leicht zu Dehydroascorbinsäure oxidiert, welche wieder zu Ascorbat reduziert oder irreversibel zersetzt werden kann. Die Lagerung unter kontrollierter Atmosphäre induziert metabolische Veränderungen im Apfel, wie die Abnahme von Vitamin C und eine vorübergehende Zunahme von Ascorbatperoxidase- und Glutathion-Reduktase-Aktivitäten, welche zum Teil das Verhalten dieser Früchte

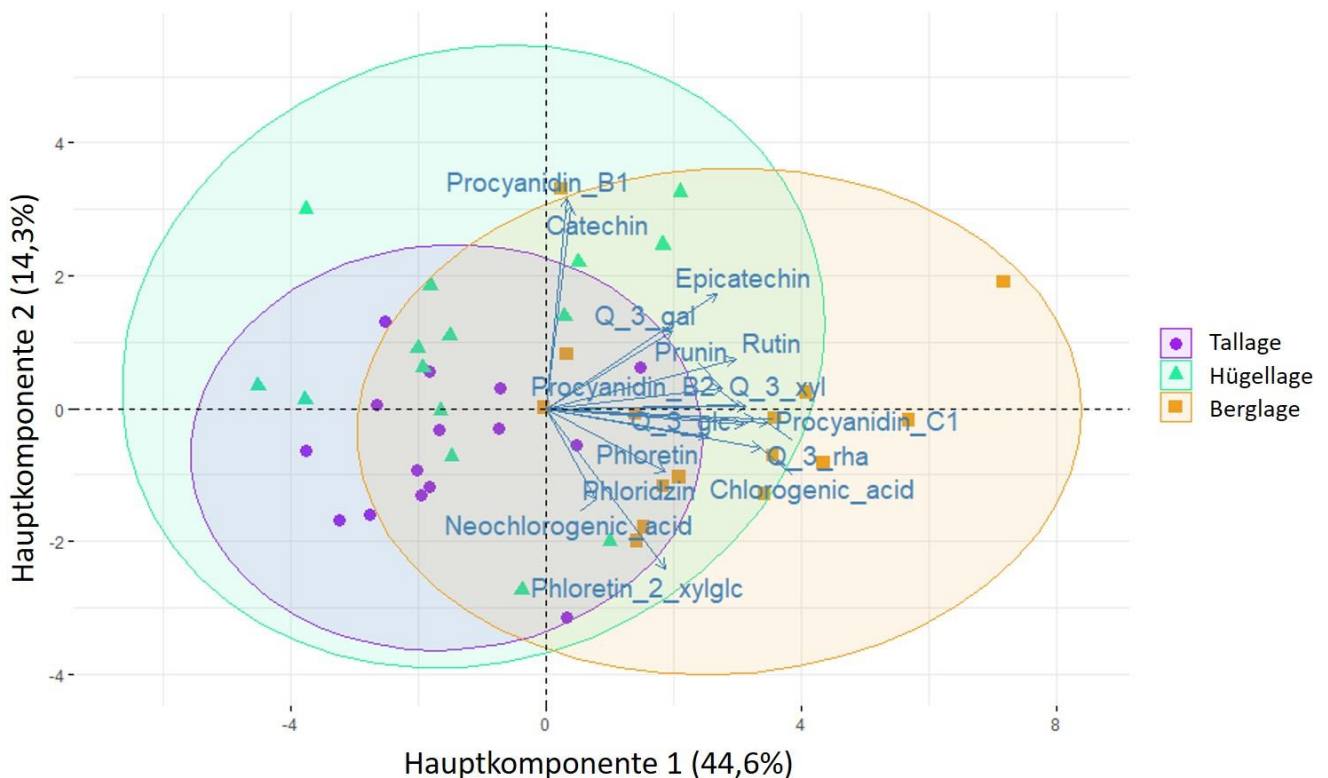


Abb. 8: Biplot der Hauptkomponentenanalyse der 16 untersuchten Einzelpolyphenole für die Proben der Tallage (violett), der Hügellage (türkis) und Berglage (orange) // Biplot of the principal component analysis of the 16 investigated individual polyphenols for the samples from the valley (purple), hill (turquoise) and mountain location (orange).

während einer Langzeitlagerung erklären kann. Pflanzen können Vitamin C, welches sie unter anderem für das Wachstum benötigen und welches ihnen hilft, abiotischen Stress wie Trockenheit und UV-Strahlung zu meistern, selbst produzieren [44]. Vitamin C zählt für den Menschen zu den essenziellen Nährstoffen und fungiert beispielsweise als Cofaktor für Hydroxylase- und Monooxygenase-Enzyme [45], zudem ist bekannt, dass Vitamin C eine antioxidative Wirkung hat [46].

Zur Untersuchung des Datensatzes der 19 Aminosäuren zum optimalen Erntezeitpunkt aus drei Höhenlagen und zu drei Lagerungszeitpunkten, wurde eine Hauptkomponentenanalyse (principal component analysis, PCA) mit den jeweiligen fünf biologischen Replikaten durchgeführt. Die erste und zweite Komponente erklärten zusammen 69,4% der gesamten Varianz und erlaubten eine Separierung der verschiedenen Lagerungszeitpunkte (Abb. 7). Tryptophan, Lysin, Leucin und Isoleucin, Histidin, Valin, Glutaminsäure, Alanin und Arginin sind nahe beieinander positioniert und positiv korreliert. Sie sind an der Separierung von den Proben nach der ULO-Lagerung beteiligt. Zudem sind sie negativ korreliert mit Glutamin, Asparaginsäure und Ornithin, die in höheren Konzentrationen in Apfelproben zur Ernte zu finden sind. Die Höhenlage hatte keinen Einfluss auf die Menge an den verschiedenen Aminosäuren in unserem Datensatz. Brizolara et al. [47] erklärten, dass die Produktion von Alanin als stoffwechselbedingte Umbaustrategie erhöht wird, um auf die niedrigen Sauerstoffkonzentrationen während der ULO-Lagerung zu reagieren. Auch

wurde bereits gezeigt, dass der Aminosäurerestoffwechsel auf verschiedene Weisen dazu beitragen kann, Schäden infolge von Sauerstoffmangel zu mindern [48]. Daraus lassen sich die Verschiebungen im Aminosäuremuster bei ULO erklären.

## POLYPHENOLE

Sekundärmetaboliten wie Polyphenole dienen der Pflanze unter anderem als Schutz vor Stress [48]. Durch die große Anzahl konjugierter Doppelbindungen und Hydroxylgruppen sind Polyphenole im Apfel hauptsächlich für deren antioxidative Kapazität verantwortlich und werden in ihrer Gesamtheit mit der Folin-Ciocalteu-Methode bestimmt [49] [50]. Der Gesamtpolyphenolgehalt zeigte zum optimalen Erntezeitpunkt signifikante ( $p < 0,05$ ) Höhenunterschiede. Proben der Berglage wiesen mit 103,7 mg/100 g ( $\pm 11,7$ ) den höchsten Gehalt auf und waren von denen der Tal- mit 78,3 mg/100 g ( $\pm 10,2$ ) und Hügellagen mit 71,4 mg/100 g ( $\pm 5,9$ ) unterscheidbar. Allerdings konnten innerhalb einer Höhenlage während der Lagerung und dem shelf-life keine signifikanten ( $p < 0,05$ ) Änderungen festgestellt werden. Da das Folin-Ciocalteu-Reagens auch mit anderen reduzierenden Substanzen, wie tertiäre aliphatische Amine, Tryptophan, Hydroxylamin und Hydrazin reagiert [51], wurden auch einzelne Polyphenole bestimmt. Um den Einfluss der Höhenlagen anhand der gemessenen Einzelpolyphenolgehalte besser bewerten zu können, wurde eine Hauptkomponentenanalyse durchgeführt. Die erste und zweite Komponente erklärten 58,9% der gesamten Varianz (Abb. 8). Es war die Tendenz einer

Separierung der Berglage auf der ersten Hauptkomponente und eine Tendenz zur Separation der Tallage von der Hügellage auf der zweiten Hauptkomponente ersichtlich. Die Hügellage war vor allem durch das Catechin und das Procyanidin B1 charakterisiert. Die Berglage zeigte auch bei den Einzelpolyphenolgehalten tendenziell höhere Gehalte, was durch den höheren Gesamtpolyphenolgehalt bestätigt wurde. Einerseits wird aus den Ergebnissen deutlich, dass die Gehalte der einzelnen Polyphenole eine deutliche Streuung innerhalb derselben Höhenlage aufweisen (hohe biologische Variabilität); andererseits stellten wir fest, dass die Gehalte der einzelnen Polyphenole statistisch signifikant von der Höhenlage der Obstweiden abhängen. Polyphenole sind bioaktive Pflanzeninhaltsstoffe wie Farbstoffe, Geschmacksstoffe und Gerbstoffe. Obwohl sie für die Pflanze nicht überlebensnotwendig sind [52], erfüllen sie wichtige Funktionen wie den Schutz vor Fraßfeinden, die Anlockung von Insekten zur Bestäubung und zum Schutz vor UV-Strahlung [53]. Beim Menschen wirken einige Polyphenole entzündungshemmend, antimutagen und anticarcinogen. Studien mit Granatapfel konnten durch Polyphenole gehemmtes Wachstum von Krebszellen zeigen [54].

## AROMASTOFFE (FLÜCHTIGE ORGANISCHE VERBINDUNGEN; VOC)

Mittels GC-MS-Analysen konnten 17 Aromastoffe der Klassen Ester, Aldehyde, Ketone, Alkohole und Säuren der zum optimalen Erntezeitpunkt geernteten Proben aus drei unterschiedlichen Höhenlagen und zu drei unterschiedlichen Nacherntezeitpunkten

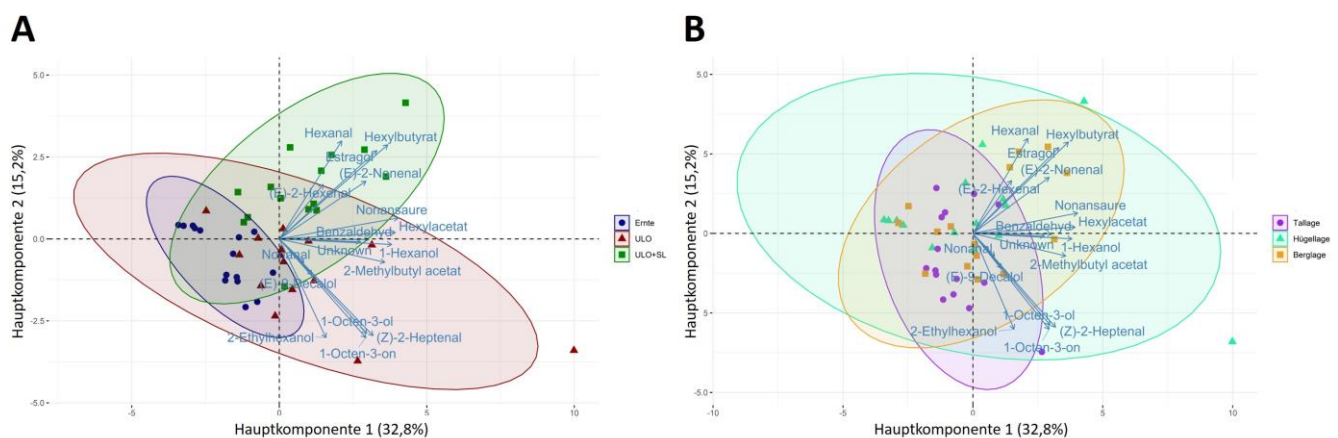


Abb. 9: Biplot der Hauptkomponentenanalyse der 17 untersuchten Aromastoffe für A) die Proben zur Ernte (blau), nach ULO-Lagerung (rot) und anschließendem shelf-life (grün) und B) die Proben der Tallage (violett), der Hügellage (türkis) und Berglage (orange) // *Biplot of the main component analysis of the 17 aroma substances examined for A) the samples at harvest (blue), after ULO storage (red) and subsequent shelf-life (green) and B) the samples from the valley (violet), hill (turquoise) and mountain location (orange).*

ten identifiziert und semiquantifiziert werden. Die Werte sind in der ergänzenden Tabelle 1 aufgeführt und stellen das Verhältnis der Fläche der Metaboliten zur Fläche des internen Standards (1-Heptanol) dar. Die ergänzende Tabelle 1 gibt auch die Identifizierungsmethoden an, wobei „a“ der Übereinstimmung mit der Bibliothek NIST14 entspricht, „b“ der sei es mit der Übereinstimmung mit der Bibliothek NIST14 als auch der Übereinstimmung des Retentionsindex, „c“ der Übereinstimmung mit der Bibliothek NIST14, als auch der Übereinstimmung des Retentionsindex sowie der Injektion von Standard entspricht. Um den Einfluss der Höhenlage und der Lagerung auf die flüchtigen organischen Verbindungen (VOC) bewerten zu können, wurde eine Hauptkomponentenanalyse durchgeführt. Die Daten zeigten aber keine Separierung der Höhenlage aufgrund der VOC (Abb. 9 B). Abbildung 9 A stellt die Hauptkomponentenanalyse aufgrund der unterschiedlichen Nacherntezeitpunkte dar. Die ersten beiden Hauptkomponenten erklärten 48% der gesamten Varianz. Auch hier wurde keine klare Trennung erhalten, jedoch war ersichtlich, dass Proben aus der Lagerung unter kontrollierter Atmosphäre und zusätzlichem shelf-life (ULO+SL) durch die Verbindungen Hexanal, (E)-2-Hexenal, Buttersäurehexylester (Hexylbutyrat), Estragol und (E)-2-Nonenal auf der zweiten Hauptkomponente beeinflusst wurden. Wie bereits durch Chitarrini et al. [55] aufgezeigt, konnte mit der verwendeten Methode und den identifizierten Verbindungen keine Unterscheidung der Proben nach Höhenlage und Lagerung festgestellt werden. In jedem Fall sind weiterführende Untersuchungen sinnvoll, um unsere Ergebnisse zu bestätigen.

## SCHLUSSFOLGERUNGEN

Im Rahmen unserer Arbeit haben wir eine Reihe Standardparameter (z.B. Fruchtfleischfestigkeit, Gesamtzucker, titrierbare Säure und Stärke) sowie weitere analytische Parameter (Einzelzucker, Vitamine, Aromen) an *Golden Delicious*-Äpfeln erhoben und gezeigt, wie sie in unterschiedlichen Höhenlagen und während der Lagerung variieren. Unsere Daten zeigen eine beachtliche Variabilität der Qualitätsparameter und Inhaltsstoffkonzentrationen entlang der drei Höhenlagen. Diese Arbeit erklärt einige Aspekte der hohen Marktakzeptanz für Äpfel aus höheren Lagen, beispielsweise hohe Festigkeit, Zucker- und Säurewerte. Bemerkenswerterweise sind die Äpfel aus den drei

## ZUSAMMENFASSUNG

Die Qualität klimakterischer Früchte wie Äpfel hängt in hohem Maße von der richtigen Erntezeit und den geeigneten Lagerbedingungen ab. Darüber hinaus ist bekannt, dass das Mikroklima um Obstbäume das Wachstum, die Reifung und die chemische Zusammensetzung von Früchten beeinflusst. Studien über die chemische Zusammensetzung von Äpfeln, die durch die Höhenlage der Obstanlage beeinflusst werden, sind jedoch nur wenige vorhanden, und daher muss das Wissen des Zusammenspiels und des Einflusses dieser Faktoren auf die Qualität von Apfelfrüchten verbessert werden. Das übergeordnete Ziel der vorliegenden Studie war eine bessere Kenntnis der Veränderungen verschiedener Fruchtmerkmale von Äpfeln des Typs *Golden Delicious Klon B*, die aus Anlagen in unterschiedlichen Höhenlagen stammen und in unterschiedlichen Reifegraden geerntet wurden. Darüber hinaus wurde untersucht, ob die Höhenlage unmittelbar nach der ULO-Lagerung und nach sechs Tagen shelf-life einen statistischen Einfluss auf die chemische Zusammensetzung der gelagerten Äpfel hatte. Die Ergebnisse der aktuellen Arbeit tragen zu einem besseren Verständnis der Auswirkungen des Erntedatums und der Höhenlage auf die Fruchtqualität und Lagerfähigkeit des *Golden Delicious-Klons B* bei.

## RIASSUNTO

La qualità dei frutti climaterici, come le mele, dipende in larga misura dal giusto tempo di raccolta e dalle adeguate condizioni di conservazione. Inoltre, è noto che il microclima che circonda gli alberi da frutto influenza la crescita, la maturazione e la composizione chimica dei frutti. Tuttavia, le conoscenze relative alla composizione chimica del frutto della mela come influenzato dall'elevazione del frutteto sono ancora scarse e quindi la comprensione dell'interazione e dell'influenza di questi fattori sulla qualità del frutto della mela deve essere migliorata. L'obiettivo generale del presente studio era una migliore comprensione dei cambiamenti in diverse caratteristiche dei frutti delle mele *Golden Delicious clone B*, derivate da frutteti situati a diverse altitudini e raccolte in diversi stadi di maturità. Inoltre, è stato studiato se l'altitudine abbia un'influenza statistica sulla composizione chimica delle mele analizzate immediatamente dopo la conservazione sotto condizioni ULO e dopo sei giorni di shelf-life. I risultati dell'attuale lavoro possono portare a una migliore comprensione dell'impatto della data di raccolta e dell'elevazione del frutteto sulla qualità dei frutti e sulla conservabilità del *clone B Golden Delicious*.

Höhenlagen in Bezug auf den Gehalt an Vitamin C, Gesamtpolyphenolen (und Einzelpolyphenolen) differenzierbar. Wir stellen einen Einfluss der ULO Bedingungen der Lagerung auf die Konzentrationen von Aromastoffen und Aminosäuren fest, ohne jedoch große Unterschiede im Polyphenolprofil zu finden. Die Lagerung unter kontrollierter Atmosphäre erzielte einen großen Nutzen bei der Aufrechterhaltung einer akzeptablen Fruchtqualität, wirkte aber generell

nivellierend auf die Unterschiede durch die Höhenlage.

## DANKSAGUNGEN

Wir möchten uns für die Finanzierung durch das Interreg IV Italien-Österreich Programm (EFRE; Projekt "Originalp" Nr. 5269 CUP: B27F11001020007) bedanken.

## LITERATUR

- [1] Sistrunk W.A., Moore, J.N. (1983). Quality. In: Moore J.N., Janick J. (eds.). *Methods in Fruit Breeding*. Purdue University Press, West Lafayette, Indiana, USA, hier pp. 274-293.
- [2] Nour V., Trandafir I., Ionica M.E. (2010). Compositional Characteristics of Fruits of several Apple (*Malus domestica* Borkh.) Cultivars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 38 (3), 228-233, DOI: [10.15835/nbha3834762](https://doi.org/10.15835/nbha3834762).
- [3] Hoehn E., Gasser F., Guggenbühl B. et al. (2003). Efficacy of instrumental measurements or determination of minimum requirements of firmness, soluble solids, and acidity of several apple varieties in comparison to consumer expectations. *Postharvest Biology and Technology* 27, 27-37, DOI: [10.1016/S0925-5214\(02\)00190-4](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(02)00190-4).
- [4] Stoll K. (1997). *Der Apfel. Inhaltsstoffe - Fruchtaufbau - Qualitätserkennung*. Enrico Negri AG, Zürich, Schweiz.
- [5] Fadanelli L. (2008). *Coltivazione: post-raccolta*. In: Cannella C., Fideghelli C., Sansavini S. (eds.). *Il melo. (Coltura & Cultura ; 6)*. Script Edizioni, Milano, Italia, hier pp. 274-337.
- [6] Bertone E., Venturello A., Leardi R. et al. (2012). Prediction of the optimum harvest time of Scarlet apples using DR-UV-Vis and NIR spectroscopy. *Postharvest Biology and Technology* 69, 15-23, DOI: [10.1016/j.postharvbio.2012.02.009](https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.02.009).
- [7] Prasanna V., Prabha T.N., Tharanathan R.N. (2007). Fruit ripening phenomena-an overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 47 (1), 1-19, DOI: [10.1080/10408390600976841](https://doi.org/10.1080/10408390600976841).
- [8] Little C.R., Holmes R. (2000). *Storage technology for apples and pears. A guide to production, postharvest treatment and storage of pome fruit in Australia*. Department of Natural Resources and Economics, Victoria, East Melbourne, Australia.
- [9] Watkins C.B., Nock J.F., Weis S.A. et al. (2004). Storage temperature, diphenylamine, and pre-storage delay effects on soft scale, soggy breakdown and bitter pit of 'Honeycrisp' apples. *Postharvest Biology and Technology* 32, 213-221, DOI: [10.1016/j.postharvbio.2003.11.003](https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2003.11.003).
- [10] Kupferman E. (2001). *Controlled Atmosphere Storage of Apples and Pears*. Tree Fruit Research and Extension Center. Retrieved March 12, 2021, from [http://www.koudecentraal.nl/documents/controlled\\_atmosphere\\_storage\\_of\\_apples\\_pears.pdf](http://www.koudecentraal.nl/documents/controlled_atmosphere_storage_of_apples_pears.pdf).
- [11] Song J., Bangerth F. (1994). Production and development of volatile aroma compounds of apple fruits at different times of maturity. *Acta Horticulturae* 368, 150-159, DOI: [10.17660/ActaHortic.1994.368.16](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1994.368.16).
- [12] Kumar P., Sethi S., Sharma R.R. et al. (2019). Influence of altitudinal variation on the physical and biochemical characteristics of apple (*Malus domestica*). *Indian Journal of Agricultural Science* 89 (1), 145-152.
- [13] DeLong J.M., Prange R.K., Harrison P.A. (1999). Using the Streif Index as a final harvest window for controlled-atmosphere storage of apples. *HortScience* 34, 1251-1255, DOI: [10.21273/HORTSCI.34.7.1251](https://doi.org/10.21273/HORTSCI.34.7.1251).
- [14] Megazyme total starch assay procedure. Version 2011. Retrieved August 25, 2014, from [https://secure.megazyme.com/files/BOOKLET/K-TSTA\\_1107\\_DATA.pdf](https://secure.megazyme.com/files/BOOKLET/K-TSTA_1107_DATA.pdf).
- [15] Stürz B. (2015). *Fruit quality and storability of 'Golden Delicious clone B' as affected by harvest date and orchard elevation. A study on metabolomic aspects*. (Master's thesis). Università degli Studi di Verona, Verona, Italy.
- [16] Prior R.L., Wu X., Schaich K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (10), 4290-4302, DOI: [10.1021/jf0502698](https://doi.org/10.1021/jf0502698).
- [17] Kaneppele E. (2017). *Analyse der Polyphenole und Vitamin C im Apfel mit Flüssigchromatographie und Nahinfrarotspektroskopie*. (Master's thesis). Leopold-Franzens-Universität, Innsbruck, Österreich.
- [18] Bassi M., Lubes G., Bianchi F. et al. (2017). Ascorbic acid content in apple pulp, peel, and monovarietal cloudy juices of 64 different cultivars. *International Journal of Food Properties* 20 (3), 2626-2634, DOI: [10.1080/10942912.2017.1381705](https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1381705).
- [19] Paglia G., Magnúsdóttir M., Thorlacius S. et al. (2012). Intracellular metabolite profiling of platelets: evaluation of extraction processes and chromatographic strategies. *Journal of Chromatography B* 898, 111-120, DOI: [10.1016/j.jchromb.2012.04.026](https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2012.04.026).
- [20] Aprea E., Corollaro M.L., Betta E. et al. (2012). Sensory and instrumental profiling of 18 apple cultivars to investigate the relation between perceived quality and odour and flavour. *Food Research International* 49, 677-686, DOI: [10.1016/j.foodres.2012.09.023](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.09.023).
- [21] R Core Team (2019). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- [22] Magein H., Leurquin D. (2000). Changes in amylose, amylopectin and total starch content in Jonagold apple fruit during growth and maturation. *Acta Horticulturae* 517, 487-491, DOI: [10.17660/ActaHortic.2000.517.62](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2000.517.62).
- [23] Gaweda M., Ben J. (2010). Dynamics of changes of starch and its components in fruitlets and maturing 'Jonagold' and 'Gala Must' apples. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research* 18 (2), 109-119.
- [24] Awad M.A., de Jager A. (2002). Influences of air and controlled atmosphere storage on the concentration of potentially healthful phenolics in apples and other fruits. *Postharvest Biology and Technology* 27, 53-58, DOI: [10.1016/S0925-5214\(02\)00189-8](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(02)00189-8).
- [25] Jan I., Rab A., Sajid M. (2012). Storage performance of apple cultivars harvested at different stages of maturity. *The Journal of Animal & Plant Sciences* 22 (2), 438-447.
- [26] Kvåle A. (1969). *Chemical Composition of Apples Grown at Different Altitudes in the SØrfjord, Hardanger*. *Acta Agriculturae Scandinavica* 19 (1), 1-10, DOI: [10.1080/00015126909433175](https://doi.org/10.1080/00015126909433175).
- [27] Hoehn E. (2001). Consumer demands on eating quality of apples. Minimum requirements on firmness, soluble solids content and acidity. In: *Book of Abstract of the EUFRIN Fruit quality Workshop*, Bled, Slovenia, May 13-15, 2001, p. 16.
- [28] Johnston J.W., Hewett E.W., Banks N.H. et al. (2001). Physical change in apple texture with fruit temperature: effects of cultivar and time in storage. *Postharvest Biology and Technology* 23, 13-21, DOI: [10.1016/S0925-5214\(01\)00101-6](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(01)00101-6).
- [29] Cliff M.A., Lau O.L., King M.C. (1998). Sensory characteristics of controlled atmosphere- and air-stored 'Gala' apples. *J. Food Qual.* 21, 239-249, DOI: [10.1111/j.1745-4557.1998.tb00519.x](https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.1998.tb00519.x).
- [30] Suni M., Nyman M., Eriksson N.-A. et al. (2000). Carbohydrate composition and content of organic acids in fresh and stored apples. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80 (10), 1538-1544, DOI: [10.1002/1097-0010\(200008\)80:10<1538::AID-JSFA678>3.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/1097-0010(200008)80:10<1538::AID-JSFA678>3.0.CO;2-A).
- [31] Crouch I. (2003). 1-Methylcyclopropene (Smartfresh™) as an alternative to modified atmosphere and controlled atmosphere storage of apples and pears. *Acta Horticulturae* 600, 433-436, DOI: [10.17660/ActaHortic.2003.600.64](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.600.64).
- [32] Ben J., Gaweda M. (1985). Changes of pectic compounds in Jonathan apples under various storage conditions. *Acta Physiologiae Plantarum* 7 (2), 45-54.

- [33] Riveria-López J., Vázquez-Ortiz F.A., Ayala-Zavala J.F. et al. (2005). Cutting shape and storage temperature affect overall quality of fresh cut papaya cv. Maradol. *Journal of Food Science* 70 (7), 488-489, DOI: [10.1111/j.1365-2621.2005.tb11496.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb11496.x).
- [34] Eisenstecken D., Stürz B., Robatscher P. et al. (2019). The potential of near infrared spectroscopy (NIRS) to trace apple origin. Study on different cultivars and orchard elevations. *Postharvest Biology and Technology* 147, 123-131, DOI: [10.1016/j.postharvbio.2018.08.019](https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.08.019).
- [35] Del Campo G., Santos J.I., Berregi I. et al. (2005). Differentiation of Basque cider apple juices from different cultivars by means of chemometric techniques. *Food Control* 16 (6), 549-555. DOI: [10.1016/j.foodcont.2004.05.013](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.05.013).
- [36] Róth E., Berna A., Beullens K. et al. (2007). Postharvest quality of integrated and organically produced apple fruit. *Postharvest Biology and Technology* 45 (1), 11-19, DOI: [10.1016/j.postharvbio.2007.01.006](https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.01.006).
- [37] Ackermann J., Fischer M., Amado R. (1992). Changes in sugars, acids and amino acids during ripening and storage of apples (Cv. Glockenapfel). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40, 1131-1134. DOI: [10.1021/jf00019a008](https://doi.org/10.1021/jf00019a008).
- [38] Campeanu G., Neata G., Darjanschi G. (2009). Chemical composition of the fruits of several apple cultivars grown as biological crop. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 37 (2), 161-164, DOI: [10.15835/nbha3723465](https://doi.org/10.15835/nbha3723465).
- [39] Mason J. B. (2012). Vitamins, Trace Minerals, and Other Micronutrients. In: Goldman L., Schafer A.I. (eds.). *Goldman's Cecil Medicine 2*. Elsevier, Philadelphia, USA, pp. 1397-1406, DOI: [10.1016/B978-1-4377-1604-7.00225-6](https://doi.org/10.1016/B978-1-4377-1604-7.00225-6).
- [40] Huskisson E., Maggini S., Ruf M. (2007). The Role of Vitamins and Minerals in Energy Metabolism and Well-Being. *Journal of International Medical Research* 35 (3), 277-289, DOI: [10.1177/147323000703500301](https://doi.org/10.1177/147323000703500301).
- [41] Kevers C., Pincemail J., Tabart J. et al. (2011). Influence of cultivar, harvest time, storage conditions, and peeling on the antioxidant capacity and phenolic and ascorbic acid contents of apples and pears. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59 (11), 6165-6171, DOI: [10.1021/jf201013k](https://doi.org/10.1021/jf201013k).
- [42] Larrigaudiere C., Lenthéric I., Pintó E. et al. (2001). Short-term effects of air and controlled atmosphere storage on antioxidant metabolism in conference pears. *Journal of Plant Physiology* 158 (8), 1015-1022, DOI: [10.1078/0176-1617-00114](https://doi.org/10.1078/0176-1617-00114).
- [43] Fawbush F., Nock J.F., Watkins C.B. (2009). Antioxidant contents and activity of 1-methylcyclopropene (1-MCP)-treated 'Empire' apples in air and controlled atmosphere storage. *Postharvest Biology and Technology* 52 (1), 30-37, DOI: [10.1016/j.postharvbio.2008.08.014](https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2008.08.014).
- [44] Smirnoff N. (2000). Ascorbic acid. Metabolism and functions of a multi-faceted molecule. *Current Opinion in Plant Biology* 3 (3), 229-235, DOI: [10.1016/S1369-5266\(00\)80070-9](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(00)80070-9).
- [45] Fang T., Zhen Q., Owiti A. et al. (2017). Variation of ascorbic acid concentration in fruits of cultivated and wild apples. *Food Chemistry* 225, 132-137, DOI: [10.1016/j.foodchem.2017.01.014](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.014).
- [46] Padayatty S.J., Katz A., Wang Y. et al. (2003). Vitamin C as an Antioxidant. Evaluation of Its Role in Disease Prevention. *Journal of the American College of Nutrition* 22 (1), 18-35, DOI: [10.1080/07315724.2003.10719272](https://doi.org/10.1080/07315724.2003.10719272).
- [47] Brizzolara S., Santucci C., Tenori L. et al. (2017). A metabolomics approach to elucidate apple fruit responses to static and dynamic controlled atmosphere storage. *Postharvest Biology and Technology* 127, 76-87, DOI: [10.1016/j.postharvbio.2017.01.008](https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.01.008).
- [48] Diab H., Limami A. (2016). Reconfiguration of N Metabolism upon Hypoxia Stress and Recovery. Roles of Alanine Aminotransferase (AlaAT) and Glutamate Dehydrogenase (GDH). *Plants* 5 (2), 25, DOI: [10.3390/plants5020025](https://doi.org/10.3390/plants5020025).
- [49] Kschonsek J., Wolfram T., Stöckl A. et al. (2018). Polyphenolic Compounds Analysis of Old and New Apple Cultivars and Contribution of Polyphenolic Profile to the In Vitro Antioxidant Capacity. *Antioxidants* 7 (1), 20, DOI: [10.3390/antiox7010020](https://doi.org/10.3390/antiox7010020).
- [50] Drogoudi P.D., Michailidis Z., Pantelidis G. (2008). Peel and flesh antioxidant content and harvest quality characteristics of seven apple cultivars. *Scientia Horticulturae* 115 (2), 149-153, DOI: [10.1016/j.scienta.2007.08.010](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2007.08.010).
- [51] Ikawa M., Schaper T.D., Dollard C.A. et al. (2003). Utilization of Folin-Ciocalteu phenol reagent for the detection of certain nitrogen compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 (7), 1811-1815, DOI: [10.1021/jf021099r](https://doi.org/10.1021/jf021099r).
- [52] Herrmann K. (2001). *Inhaltsstoffe von Obst und Gemüse*. Ulmer, Stuttgart, Deutschland.
- [53] Baxter H., Harborne J.B., Moss G.P. (eds.) (1998). *Phytochemical dictionary. A handbook of bioactive compounds from plants*. CRC Press Taylor and Francis Group, Boca Raton, Florida, USA.
- [54] Lansky E.P., Newman R.A. (2007). *Punica granatum (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer*. *J Ethnopharmacol* 109 (2), 177-206, DOI: [10.1016/j.jep.2006.09.006](https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.09.006).
- [55] Chitarrini G., Dordevic N., Guerra W. et al. (2020). Aroma Investigation of New and Standard Apple Varieties Grown at Two Altitudes Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry Combined with Sensory Analysis. *Molecules* 25 (13), 3007, DOI: [10.3390/molecules25133007](https://doi.org/10.3390/molecules25133007).