

Entwicklung einer neuen Methode für die quantitative Bestimmung von Furaneol(4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanon) und Mesifuran(2,5-dimethyl-4-methoxy- 3(2H)-furanon) in Erdbeeren, Erdbeerkonfitüren und Erdbeerbränden

Walter Brandes und Reinhard Baumann

HBLA und BA für Wein- und Obstbau Klosterneuburg
A-3400 Klosterneuburg, Wiener Straße 74
E-Mail: Walter.Brandes@weinobst.at

Furaneol und Mesifuran sind in verschiedenen Früchten vorkommende Aromastoffe und tragen vor allem bei Erdbeeren entscheidend zur Sensorik bei. Hohe Polarität und Siedepunkte, verbunden mit begrenzter Stabilität, stellen speziell für die Analytik von Furaneol besondere Herausforderungen dar. Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine einfache Extraktionstechnik entwickelt, die bei ausreichender Empfindlichkeit und guter Wiederholbarkeit die Bestimmung von beiden Verbindungen in Erdbeeren und einigen Verarbeitungsprodukten ermöglicht. Die Bestimmung erfolgt auf einem Gaschromatographen mit polarer Trennsäule und Flammenionisationsdetektor. Die Methode liefert befriedigende analytische Kenndaten und ist außerdem preiswert und gut für Serienanalysen geeignet.

Schlagworte: Erdbeeraroma, Furaneol, Mesifuran, Analysenmethode

New method for the quantitative determination of furaneol(4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanon) and mesifurane(2,5-dimethyl-4-methoxy- 3(2H)-furanon) in strawberries, strawberry jams and strawberry spirits. Furaneol and mesifurane are aroma substances that occur in various fruits and make a decisive contribution to the sensory properties of strawberries in particular. High polarity and boiling points combined with limited stability represent particular challenges for the analysis of furaneol. Within the scope of this work, a simple extraction technique was developed which, with sufficient sensitivity and good repeatability, facilitates the determination of both compounds in strawberries and some processed products. Determination is carried out on a gas chromatograph with a polar separation column and flame ionisation detector. The method offers satisfactory analytical values, is inexpensive and well-suited for serial analyses.

Keywords: strawberry aroma, furaneol, mesifurane, analytical method

Erdbeeren zählen auf Grund ihres feinen Aromas und der frühen Reife mit zu den wichtigsten Obstarten. Neben dem Frischverzehr wird ein bedeutender Teil der Früchte zu Folgeprodukten, insbesondere Konfitüre, verarbeitet. Sowohl für die Sortenzucht als auch die Verarbeitung ist die Kenntnis über die für das typische Aroma hauptsächlich verantwortlichen Substanzen von großem Interesse. Diesbezügliche Untersuchungen haben eine Vielzahl dieser Verbindungen, darunter Ester, Alkohole, Aldehyde, Terpene und Lactone, identifiziert (Modise et al., 2004; Negri et al., 2015; Kafkas et al., 2006; Jetti et al., 2007; Jouquad et al., 2008). Als Schlüsselaromakomponenten werden übereinstimmend besonders die für die süß-karamellartige Note verantwortlichen Komponenten Furaneol und Mesifuran genannt (Ulrich et al., 1997; Wein et al., 2002; Perez et al., 1996; Yan et al., 2018; Dirinck et al., 1981; Al-Taher et al., 2020; Oliver et al., 2018; Watson et al., 2002). Vor allem Furaneol stellt für die Analytik eine besondere Herausforderung dar. Dieses Furanderivat ist durch seine hohe Polarität vielen Anreicherungstechniken, insbesondere der in der Aromaanalytik weit verbreiteten Festphasen-Mikroextraktion (SPME) nicht in befriedigender Weise zugänglich (Bianchi et al., 2017; Zorilla et al., 2012; Kafkas et al., 2005; Siegmund et al., 2010). Seine thermische Instabilität und die vom pH-Wert abhängige Degradation in wässrigen Lösungen stellen sowohl für die Probenaufarbeitung als auch Detektion zusätzliche Herausforderungen dar. So wurden für die Anreicherung und Isolation Extraktionsverfahren mit verschiedenen Lösungsmitteln und unterschiedlichen Bedingungen getestet. Diese Verfahren benötigen jedoch einen beträchtlichen Zeitaufwand, und die teilweise schlechte Vergleichbarkeit der Ergebnisse lässt auf unzureichende Reproduzierbarkeit schließen (Fourney, 2001). Lediglich Festphasenextraktion mit speziell modifizierten Adsorbentharzen scheint befriedigende Ergebnisse zu erbringen (Ferreira et al., 2003; Siegmund et al., 2010). Der Zeitaufwand ist jedoch auch bei diesen Verfahren beträchtlich. Für die Detektion ist sowohl die Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) mit UV-Detektion (Sanz et al., 1994; Perez et al., 1996; Buttery et al., 1995) als auch die Gaschromatographie (GC) mit Flammenionisationsdetektion bzw. Massenspektrometrie möglich (Larsen et al., 1992; Hirvi, 1983; Schreier, 1980; Douillard et al., 1990). Die HPLC besitzt den

Vorteil, dass dabei auch das Glucosid des Furaneols bestimmt werden kann, das einer direkten gaschromatographischen Bestimmung auf Grund seiner Nichtflüchtigkeit nicht zugänglich ist. Eine befriedigende Trennung an Umkehrphasen ist allerdings nur schwer zu erreichen (Rousseff et al., 1998).

Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung einer schnellen, einfachen und kostengünstigen Methode für die Bestimmung von Furaneol und Mesifuran in Erdbeeren und einigen Verarbeitungsprodukten.

Material und Methoden

Probenmaterial

Für die hier entwickelte Methode wurden folgende Proben verwendet.

1. Drei verschiedene Erdbeersorten, und zwar die Sorten 'Malling Centenary', 'Elsanta' und 'Darselect' der Abteilung Obstbau der HBLA und BA für Wein- und Obstbau Klosterneuburg sowie eine Handelsprobe eines regionalen Supermarktes ohne nähere Bezeichnung
2. Drei verschiedene Erdbeerkonfitüren eines regionalen Supermarktes mit Fruchtanteilen zwischen 50 und 75 %
3. Vier verschiedene Erdbeerbrände einer Versuchsserie der Abteilung Obstverarbeitung der HBLA und BA für Wein- und Obstbau Klosterneuburg mit einem Alkoholgehalt von ca. 40 %vol.

Chemikalien und Lösungen

Ethanol 99,5 % reinst (Roth, Karlsruhe, Deutschland)

Tert-Butylmethylether 99,5 % (Roth, Karlsruhe, Deutschland)

Mono-Natriumcitrat 99 % (Roth, Karlsruhe, Deutschland)

Citronensäuremonohydrat 99,5 % (Sigma Aldrich, St.Louis, USA)

Furaneol 98 % (Sigma Aldrich, St.Louis, USA)

Mesifuran 97 % (Sigma Aldrich, St.Louis, USA)

Maltol (Sigma Aldrich, St.Louis, USA)

Zitratpuffer 0,1M pH 3,2: 1,3 g Mono-Natriumcitrat und 0,7 g Citronensäuremonohydrat in 100 ml Deionat

Interne Standardlösung: 250 mg/l Maltol in 20 %igem Ethanol

Messinstrumente

Die Bestimmung von Mesifuran und Furaneol erfolgte auf einem 7820A Gaschromatographen mit Flammenionisationsdetektor und automatischem Probengeber (alles: Agilent Technologies, St. Clara, USA).

Probenvorbereitung

Frischware und Konfitüre wurden mit einem Stabmixer püriert und homogenisiert. 10 g wurden in einem 50 ml Zentrifugenröhrchen mit 20 ml Citratpuffer versetzt, 5 Minuten gevortext und anschließend zentrifugiert (4500 U/min, 10 min). Der Überstand wurde vorsichtig abgossen und für die weitere Analyse verwendet.

3 ml Überstand wurden in ein 15 ml-Zentrifugenröhrchen pipettiert und nach Zugabe von 90 µl Interner Standardlösung und 1 ml tert-Butylmethylether mit 4 g Natriumdihydrogenphosphat-Monohydrat versetzt und 10 min gevortext. Anschließend wurde zentrifugiert (6000 u/min, 7 min) und der Überstand direkt für die Analyse verwendet.

Bei den Erdbeerbränden wurden 3 ml Brand nach Zusatz von 90 µl Interner Standardlösung und 1 ml tert-Butylmethylether mit 3 g Natriumdihydrogenphosphat-Monohydrat versetzt und dann wie oben aufbereitet.

Die Kalibration erfolgte bei Frischware mit verschiedenen Konzentrationen der beiden Substanzen in wässrigen Citratpufferlösungen, die wie die Proben vorbereitet wurden. Bei Konfitüren wurde den Citratpufferlösungen zur Angleichung der Matrix an den hohen Zuckeranteil bei Konfitüren Saccharose in 15 %iger Konzentration zugefügt. Bei den Erdbeerbränden wurden zur Angleichung der Matrix für die Kalibration Citratpufferlösungen mit Ethanolzusatz verwendet (Endkonzentration 40 %vol.). Da speziell Furaneol in Lösung nur eine beschränkte Stabilität aufweist, sollten entsprechende Kalibrationen möglichst nur mit frisch bereiteten Lösungen der beiden Substanzen erfolgen.

Für die Bestimmung der Wiederfindungsraten wurden bei allen Proben Zusätze von 5 und 10 mg/l Furaneol bzw. Mesifuran verwendet. Die Bestimmung der Reproduzierbarkeit erfolgte durch viermalige Analyse aller Proben. Alle Ansätze wurden in Doppelbestimmung analysiert.

Analytik

Injektionsvolumen: 1,0 µl, splitless

Trennsäule: DB-Wax 60 m Länge, 0,32 mm ID, 0,25 µm Filmdicke (Agilent Technologies, St. Clara, USA)

Trägergas: He mit 3,5 ml/min, konstanter Fluss

Injektortemperatur: 200 °C

Detektortemperatur: 250 °C

Temperaturprogramm: Initial 45 °C für 3 min, Aufheizen auf 80 °C mit 30 °C/min, Haltezeit 0 min, Aufheizen auf 140 °C mit 4 °C/min, Haltezeit 0 min, Aufheizen auf 167 °C mit 2 °C/min, Haltezeit 0 min, Aufheizen auf 250 °C mit 40 °C/min, Haltezeit 12 min

Die Quantifizierung erfolgte über die Peakflächen mit Maltol als Internem Standard.

Ergebnisse

Die Kalibration erbrachte für beide Verbindungen in einem Bereich bis 20 mg/l eine ausgezeichnete Linearität (Abb. 1 und Abb. 2). Die Wiederfindung bei Zusätzen von 5 und 10 mg/l lag bei allen untersuchten Produkten zwischen 94 und 112 %. Die relative Standardabweichung bei vierfacher Wiederholung lag bei allen Produkten zwischen 0,4 und 7,3 %. Lediglich bei den Erdbeerbränden konnte für Furaneol diesbezüglich keine statistische Auswertung erfolgen, da hier die entsprechenden Gehalte bei allen Produkten unter der Bestimmungsgrenze lagen. Eine grobe Abschätzung durch Vergleich der Chromatogramme zeigte aber auch hier eine sehr gute Übereinstimmung.

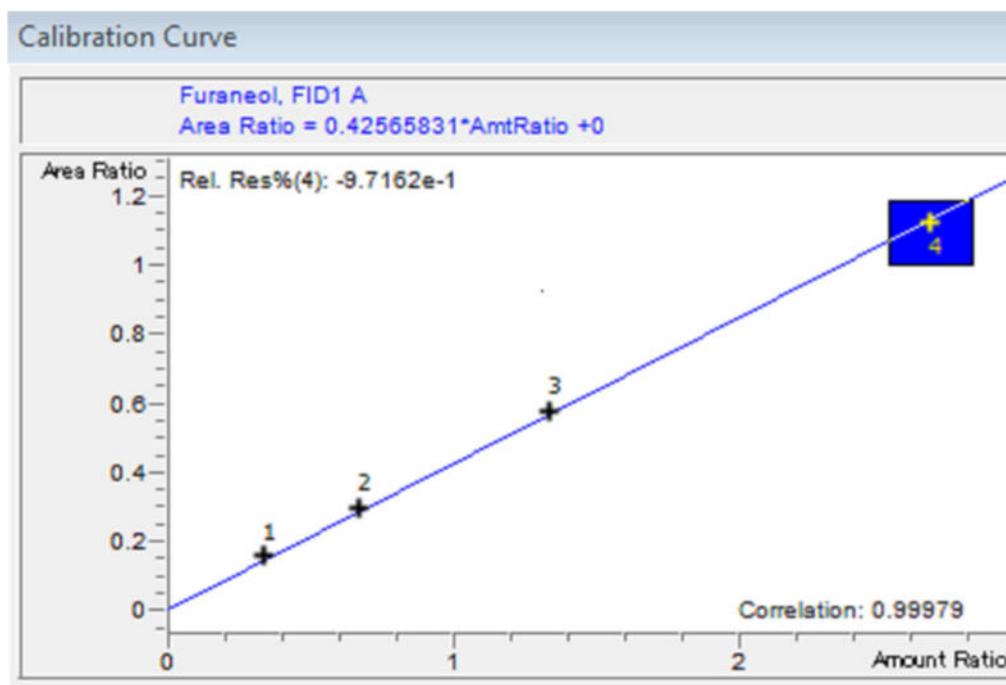


Abb.1: Kalibrationskurve Furaneol unter Verwendung wässriger Citratpufferlösungen

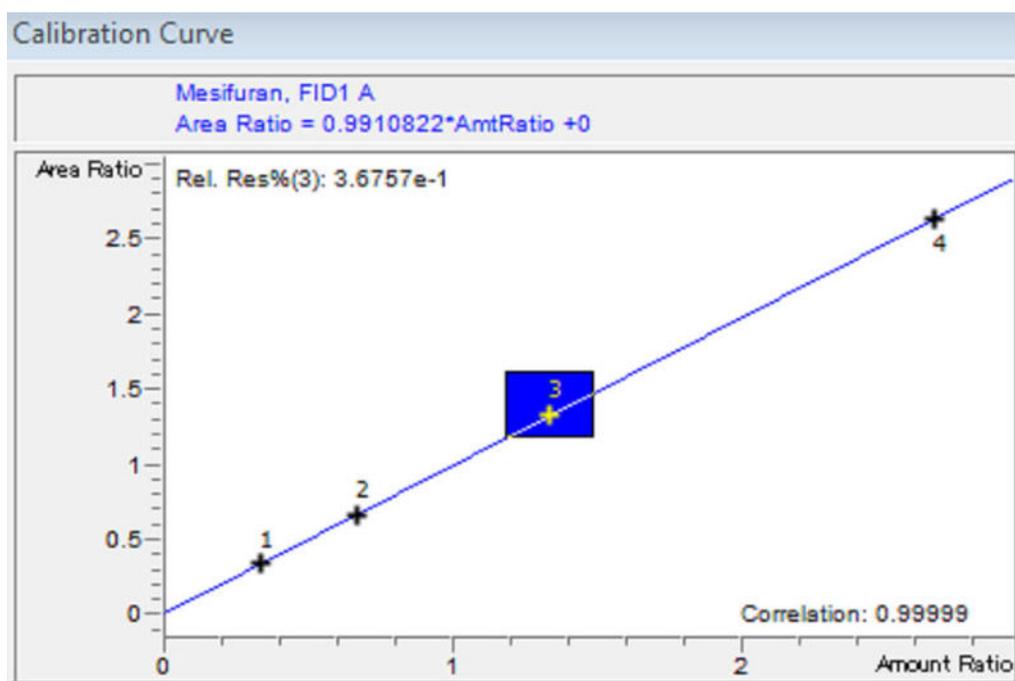


Abb.2: Kalibrationskurve Mesifuran unter Verwendung wässriger Citratpufferlösungen

Tab. 1: Wiederfindungsraten und relative Standardabweichungen (Rel.StdAbw) von Furaneol und Mesifuran in den verschiedenen Proben (Mittelwert der Doppelbestimmungen; Wf1 = Wiederfindungsrate bei 5 mg/l Zusatz, Wf2 = Wiederfindungsrate bei 10 mg/l Zusatz)

	Wf1%	Wf1%	Wf2%	Wf2%	Rel.StdAbw %	Rel.StdAbw %
	Furaneol	Mesifuran	Furaneol	Mesifuran	Furaneol	Mesifuran
Erdbeere1	102,1	102,1	102,8	99,5	1,3	0,8
Erdbeere2	105,7	105,7	106,1	99,7	0,4	0,6
Erdbeere3	111,0	111,0	111,8	100,9	0,7	1,0
Erdbeere4	102,7	102,7	102,9	98,5	2,0	2,1
Konfitüre1	96,5	96,5	97,4	96,4	2,1	2,5
Konfitüre2	99,7	99,7	97,1	93,7	2,3	6,7
Konfitüre3	99,2	99,2	98,9	99,0	1,4	7,3
Brand1	103,9	101	104,5	101,2	n.best.	2,2
Brand2	99,2	98,2	100,2	98,75	n.best.	1,7
Brand3	94,7	94	96,8	96,2	n.best.	1,7
Brand4	105,3	99,4	105,3	100,2	n.best.	2,1

Tabelle 1 gibt eine Zusammenfassung der analytischen Kenndaten. Die gewonnenen Extrakte sind farblos und die entsprechenden Chromatogramme einfach auszuwerten (Abb. 3 und Abb. 4). Lediglich bei den Bränden erfordert die Auswertung, bedingt durch die große Anzahl der hier auftretenden Gärungsnebenprodukte, etwas mehr Sorgfalt (Abb. 5). Ein Vorteil gegenüber einer SPE-Aufreinigung ist, dass die nach der Zentrifugation der Proben/Citratpuffer-Gemische verbleibende leichte Trübung die weitere Aufarbeitung nicht stört. Die Methode ist schnell, preiswert und gut für Serienuntersuchungen geeignet. Die Nachweis- und Bestimmungsgrenzen, berechnet aus dem Signal/Rausch-Verhältnis, betragen 0,08 bzw. 0,27 mg für Mesifuran und 0,23 bzw. 0,75 mg für Furaneol bezogen auf 1 kg Frischware oder Konfitüre. Bei Erdbeerbrand sind die entsprechenden Werte 0,06 bzw. 0,20 mg für Mesifuran und 0,17 bzw. 0,55 mg für Furaneol bezogen auf 1 l Brand. Die geringere Empfindlichkeit für Furaneol im Vergleich zu Mesifuran ist eine Folge des deutlich geringeren Responses

dieser Verbindung. Dieser geringere Response tritt auch bei Direktinjektion einer Lösung mit gleichen Konzentrationen an Mesifuran und Furaneol auf und ist damit keinesfalls auf die schlechtere Extraktion von Furaneol im Zuge der Probenaufarbeitung zurückzuführen. Eine Steigerung der Empfindlichkeit durch Einengung des Volumens der Etherextrakte ist mit hoher Wahrscheinlichkeit möglich, jedoch von entsprechendem Mehraufwand begleitet. Diese Möglichkeit wurde hier jedoch nicht weiterverfolgt, da in fast allen untersuchten Produkten die Konzentrationen beider Verbindungen deutlich über den Bestimmungsgrenzen lagen. Lediglich bei den Bränden mit ihren sehr geringen Furaneolgehalten wäre diese Möglichkeit überlegenswert. Wie erwähnt, ist das Glucosid des Furaneols durch seine fehlende Flüchtigkeit auf diesem Weg nicht direkt bestimmbar.

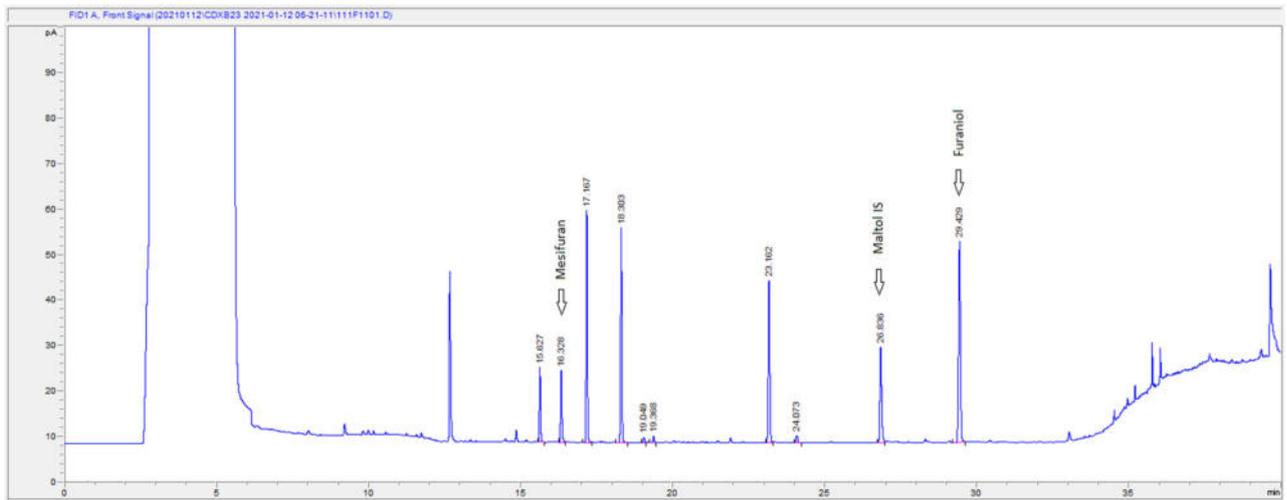


Abb. 3: Chromatogramm eines Extraktes aus frischen Erdbeeren

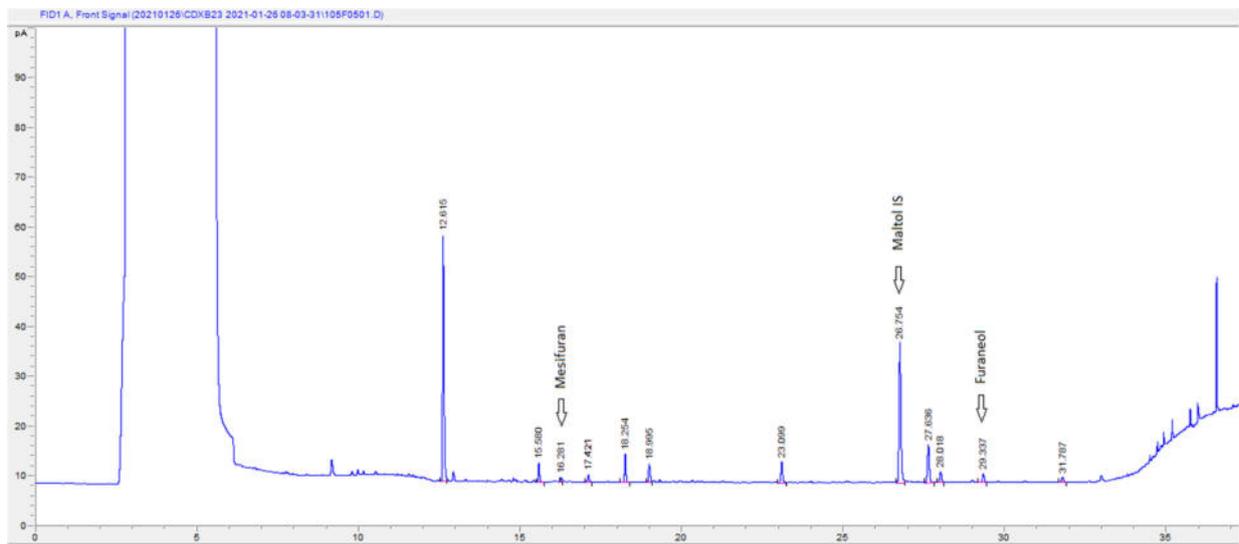


Abb. 4: Chromatogramm eines Extraktes aus Konfitüre

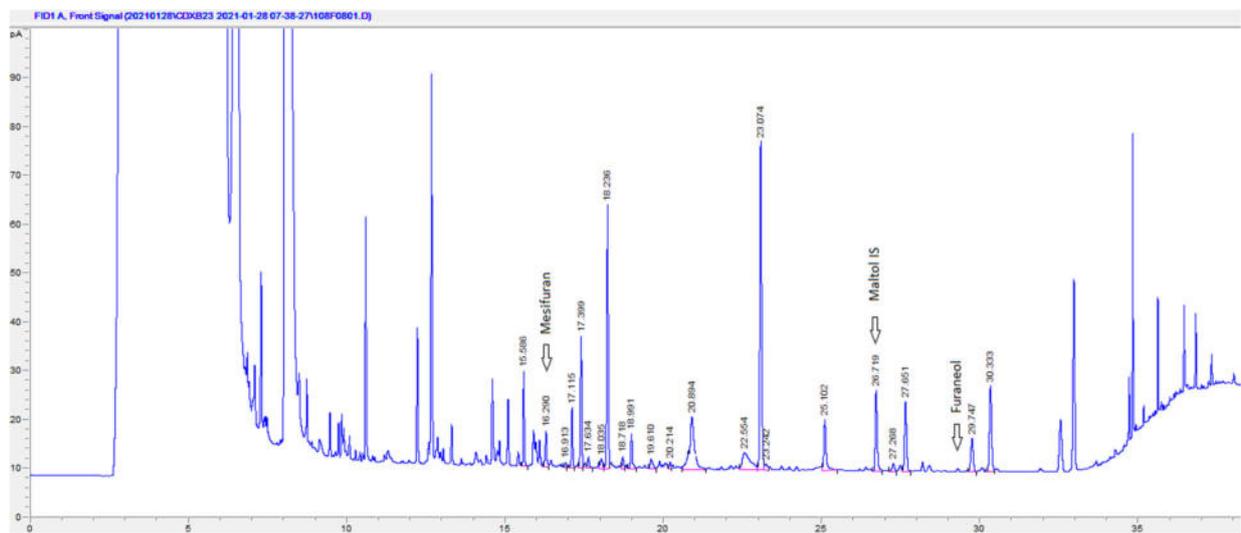


Abb. 5: Chromatogramm eines Extraktes aus einem Erdbeerbrand

Diskussion

Die hier vorgestellte Methode für die Bestimmung von Furaneol und Mesifuran erscheint auf Grund der vorliegenden Ergebnisse sowohl für Frischware als auch für Konfitüren und Brände als gut geeignet. Der Zeitbedarf pro Probe ist, vor allem bei Serienanalytik, relativ gering, und die benötigten Chemikalien sind kostengünstig und ungiftig. Durch die Sättigung der Probelösung mit Natriumdihydrogenphosphat wird einerseits der pH-Wert in den für die Stabilität von Furaneol günstigen, schwach sauren Bereich gebracht, und andererseits der Verteilungskoeffizient soweit in Richtung tert-Butylmethylether verschoben, dass

mit dem hier beschriebenen Phasenverhältnis weitgehende Extraktion erfolgt. Die Probenvorbereitung erfordert lediglich zwei Zentrifugationsschritte im Vergleich zu den sonst häufig erforderlichen Filtrationstechniken, und die Anpassung an verschiedene Probenmatrizes ist in einfacher Weise durch Veränderung der Matrix der Kalibrationsstandards möglich. Wahrscheinlich kann durch Einengung der Etherextrakte die Empfindlichkeit noch deutlich erhöht werden, wobei der Zeitaufwand dann allerdings steigt. Nachteilig gegenüber flüssigchromatographischer Analysetechniken ist lediglich, dass damit Furaneolglucosid nicht direkt bestimmt werden kann.

Literatur

Al-Taher, F. and Nemzer, B. 2020: Identification of Aroma Compounds in Freeze-dried Strawberries and Raspberries by HS-SPME-GC-MS J.Food Research Vol 9(4): 30-40.

Bianchi, G., Lucchi, P., Maltoni, M.L. and Fagherazzi, A. 2017: Analysis of aroma compounds in new strawberry advanced genotypes. Acta Horticulturae 1156: 673-678.

Buttery, R.G., Takeoka, G.R. and Ling, L.C. 1995: Furaneol: Odor Threshold and Importance to Tomato Aroma J. Agric Food Chem. 43: 1638-1640.

Dirinck, P.J., De Pooter, H.L., Willaert, G.A. and Schamp, N.M. 1981: Flavour Quality of Cultivated Strawberries: The role of the Sulphur Compounds J.Agric.Food Chem 29: 316-321.

Douillard, C. and Guichard, E. 1990. The aroma of strawberry (*Fragaria ananassa*): Characterisation of some cultivars and influence of freezing. J. Sci. Food Agr. 50:517-531.

Ferreira, V., Jarauta, I., Lopez, R. and Cacho, J. 2003: Quantitative determination of sotolon, maltol and free furaneol in wine by solid-phase extraction and gas chromatography-ion-trap mass spectrometry J.Chrom.1010(1): 95-103

Forney, C.F. 2001: Horticultural and other Factors Affecting Aroma Volatile Composition of Small Fruit Hortecchnology 11(4): 529-538.

Hirvi, T. 1983. Mass fragmentographic and sensory analyses in the evaluation of the aroma of some strawberry varieties. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie 16:157-161.

Jetti, R.R., Yang, E., Kurnianta, A., Finn, C. and Qian, M.C. 2007: Quantification of Selected Aroma-Active Compounds in Strawberries by Headspace Solid-Phase Microextraction Gas Chromatography and Correlation with Sensory Descriptive Analysis. Journal of Food Science Vol 72: 487-496 .

Jouquad, C., Chandler, C., Plotto, A., and Goodner, K. 2008: A Sensory and Chemical Analysis of Fresh Strawberries Over Harvest Dates and Seasons Reveals Factors That Affect Eating Quality. Journal of the American Society for Horticultural Science Volume 133: 859-867.

Kafkas, E., Kafkas, S., Koch-Dean, M., Schwab, W., Larkov, O., Lavid, N., Bar, E., Ravid, U. and Lewinsohn, E. 2005: Comparison of Methodologies for the Identification of Aroma Compounds in Strawberry. *Turk J Agric For* 29: 383-390.

Kafkas, E., Cabaroglu, T., Selli, S., Bozdogan, A., Kürkcüoğlu, M., Paydas, S. and Baser, K.H.C. 2006: Identification of volatile aroma compounds of strawberry wine using solid-phase microextraction techniques coupled with gas chromatography–mass spectrometry *Flavour Fragr.* 21: 68–71.

Larsen, M. and Poll, L. 1992: Odour thresholds of some important aroma compounds in strawberries. *Zeitschrift. für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung* 195:120–123.

Modise, D.M., Wright, C.J., Watson, R., Linforth, R. and Taylor, A.J. 2004: Flavour volatile compound analysis in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits: comparison of two mass spectrometer techniques for identifying volatile compounds *South African Journal of Botany* 2004, 70(2): 306–309.

Negri, A.S., Allegra, D., Simoni, L., Ruscino, F., Tonelli, C., Espen, L. and Galbiati, M. 2015: Comparative analysis of fruit aroma patterns in the domesticated wild strawberries “Profumata di Tortona” (*F. moschata*) and “Regina delle Valli” (*F. vesca*) *Front. Plant Sci.* Vol.6 Art.56: 1-13.

Oliver, P., Cicerale, S., Pang, E. and Keast, R. 2018: Identifying Key Flavors in Strawberries Driving Liking via Internal and External Preference Mapping. *J.Food Science* 83: 1073-1083.

Perez, A.G., Olias, R., Sanz, C. and Olias, J.M. 1996: Furanones in Strawberries: Evolution during Ripening and Postharvest Shelf Life. *J. Agric. Food Chem.* 44: 3620–3624.

Rouseff, R., Goodner, K., Norby, H. and Naim, M. 1998: Comparison of HPLC and GC-MS analysis of furans and furanones in citrus juices *Am.Chem.Soc.:* 211-222.

Sanz, C., Perez, A.G. and Richardson, D.G. 1994: Simultaneous HPLC Determination of 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3 (2H)-Furanone and Related Flavor Compounds in Strawberries *J.Food Sci.* Vol 59(1): 139-141.

Schreier, P. 1980. Quantitative composition of volatile constituents in cultivated strawberries, *Fragaria ananassa* cv. Senga Sengana, Senga Litesa and Senga Gourmella. *J. Sci. Food Agr.* 31:487–494.

Siegmund, B., Bagdonaite, K. and Leitner, E. 2010 Furanol and Mesifuran in Strawberries—An analytical challenge *Expression of Multidisciplinary Flavour Science* 537-540.

Ulrich, D., Hoberg, E., Rapp, A. und Kecke, S. 1997: Analysis of strawberry flavour—discrimination of aroma types by quantification of volatile compounds. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und Forschung* 205(3): 218-223.

Watson, R., Wright, C.J., Mcburney, T., Taylor, A.J., and Linforth, R.S.T. 2002: Influence of harvest date and light integral on the development of strawberry flavour compounds. *Journal of Experimental Botany*, Volume 53, Issue 377 Pages 2121–2129.

Wein, M., Lavid, N., Lunkenbein, S., Lewinsohn, E., Schwab, E. and Kaldenhoff, R. 2002: Isolation, cloning and expression of a multifunctional O-methyltransferase capable of forming 2,5-dimethyl-4-methoxy-3(2H)-furanone, one of the key aroma compounds in strawberry fruits. *The Plant Journal* 31(6): 755-765.

Yan, J.W., Ban, Z.J., Lu, H.Y., Li, D., Poverenov, E., Luo, Z.S. and Li, L. 2018: The aroma volatile repertoire in strawberry fruit: a review. *J Sci Food Agric.* 2018 Sep;98(12): 4395-4402.

Zabetakis, I., Koulentianos, A., Orruno, E. and Boyes, I. 2000: The effect of high hydrostatic pressure on strawberry flavour compounds. *Food Chemistry* Vol 71: 51-55.

Zorilla-Fontanesi, Y., Rambla, J.-L., Cabeza, A., Medina, J.J., Sanchez-Sevilla, J.F., Valpuesta, V., Botella, M.A., Granell, A. and Amaya, I. 2012: Genetic Analysis of Strawberry Fruit Aroma and Identification of O-Methyltransferase FaOMT as the Locus Controlling Natural Variation in Methylated Content Plant Physiol. Vol. 159: 851-870.

Eingelangt am 12. März 2021

Einfluss ausgewählter Destillationsparameter beim Aufheizen auf den Verlauf der Leitfähigkeit bei Apfelbrand

Manfred Gössinger¹, Andreas Schneider¹, Victoria Fischer¹, Andreas Liebming² und Cordula Klaffner¹

¹ Höhere Bundeslehranstalt und Bundesamt für Wein- und Obstbau Klosterneuburg
A-3400 Klosterneuburg, Wiener Straße 74

² Edelbrände Liebming
A-2130 Paasdorf, Schwemmzeile 4

E-Mail: manfred.goessinger@weinobst.at

Der Verlauf der Leitfähigkeitswerte (LF) während der Destillation ist unter anderem von den Einstellungen am Brenngerät während der Brennphase, aber auch während der Aufheizphase abhängig. In diesem Versuch wurde mittels faktoriellen Versuchsplans der Effekt der Faktoren Dephlegmatortemperatur, Anzahl aktiver Böden und Geschwindigkeit in der Aufheizphase auf den Verlauf der LF bei der Destillation von Apfelmaische genauer untersucht. Die Ergebnisse zeigen, dass die ausgewählten Faktoren unterschiedlichen Einfluss auf den Anfangspeak und damit auch auf den weiteren Verlauf der LF während der Destillation haben. Während sich die Dephlegmatortemperatur signifikant auf die Verstärkung (Alkoholgehalt) der Fraktionen und den Verlauf der LF in den Mittel- und Nachlauffraktionen auswirkt, zeigen die Anzahl der aktiven Böden und die Aufheizgeschwindigkeit einen signifikanten Effekt vor allem auf den Anfangspeak zu Beginn der Brennphase. Die Nutzung der hier gezeigten Ergebnisse kann die Strategie im Destillationsprozess grundlegend verändern und zur Qualitätsverbesserung von Obstdestillaten beitragen.

Schlagwörter: Obstdestillat, Dephlegmatortemperatur, Verstärkerböden, Aufheizgeschwindigkeit, Leitfähigkeit

Influence of selected distillation parameters in the heating-up stage on the conductivity profile of apple spirit. The conductivity profile during distillation depends amongst others on the adjustment of the distillery in the firing stages especially in the heating-up stage. In this study the factors dephlegmator temperature, number of active plates and heating speed in the heating-up stage on the conductivity profile of apple spirit were investigated by means of a fractional experimental design. The results show that the chosen factors had different effects on the conductivity profile during distillation. Fortification (alcohol concentration) and conductivity during distillation were affected significantly by dephlegmator temperature. The number of active plates and heating speed, however, particularly had a significant effect on the conductivity profile at the beginning of the distillation process (first peak). The shown results can serve as a data basis to improve the strategy of fruit distillation processes and quality of fruit spirit.

Keywords: fruit spirit, dephlegmator temperature, sieve plates, heating speed, conductivity

Die Messung der Leitfähigkeit (LF) gewinnt bei der Obstdestillation zunehmend an Bedeutung. Neben der Bestimmung des Nachlaufabtrennzeitpunktes (Donabaum, 2009; Liebming et al., 2020) mittels LF-Messung konnte auch schon ein Zusammenhang zwischen dem Verlauf der LF während der Destillation und der Qualität von Marillendestillaten festgestellt werden (Liebming et al., 2021a). Die Leitfähigkeit (Konduktivität) ist der Kehrwert des Widerstandes ($1/R = I/U$ (Stromstärke pro Spannung)) und beschreibt eine physikalische Größe, die angibt, wie ein Stoff den elektrischen Strom leitet (abhängig von Kationen und Anionen bei Flüssigkeiten). Der Wert der LF wird von vielen Faktoren (z. B. Alkoholgehalt, Temperatur) beeinflusst (WTW, 2019; Persona et al., 2013).

Der Verlauf sowie das Niveau der LF-Werte während des Destillationsprozesses wird nicht nur von der Maischezusammensetzung sondern auch von einigen Destillationsparametern beeinflusst (Liebming et al., 2021b).

Die Destillationsgeschwindigkeit, die Anzahl der aktiven Böden und vor allem die Dephlegmatortemperatur haben einen starken Einfluss auf die Ausbeute und Qualität von Obstbränden (Gössinger und Lehner, 2007). Mit zunehmender Verstärkung destillieren ab einem gewissen Bereich immer mehr wertgebende Inhaltsstoffe aus dem Mittellauf in den Nachlauf. Die Destillate werden dadurch klarer im Ausdruck, aber auch schlanker und dünner am Gaumen. Die Aromaintensität nimmt ab. Weiters wird sowohl durch einen höheren Alkoholgehalt in der Maische bzw. im Raubrand sowie eine geringere Destillationsgeschwindigkeit (Gössinger et al., 2011) als auch eine höhere Verstärkung bedingt durch die Anzahl aktiver Böden und niedrigerer Dephlegmatortemperaturen (Gössinger et al., 2012) der Nachlaufabtrennzeitpunkt (N-Punkt) signifikant verschoben. Mit den bis jetzt kontrollierten Parametern ist eine Optimierung der Qualität von Obstbränden jedoch sehr schwierig und schlecht reproduzierbar. Die Vorherberechnung des N-Punktes setzt ebenfalls eine gleichmäßige Destillationsgeschwindigkeit voraus.

Ziel dieser Arbeit ist es, den Einfluss der Dephlegmatortemperatur, der Anzahl der aktiven Böden und der Aufheizgeschwindigkeit auf den Verlauf der LF während der Destillation und dessen Einfluss auf die Mengen an Vor-, Mittel- und Nachlauf von Apfelmaische genauer zu bestimmen.

Material und Methoden

Rohmaterial

Für die Versuche wurde eine Apfelmaische (900 l, 7,1 %vol.) verwendet die aus einem Sortengemisch des Versuchsguts Haschhof der HBLA und BA für Wein- und Obstbau Klosterneuburg der Ernte 2020 nach guter Herstellungspraxis bereitet wurde (Graf et al., 2020).

Destillation

Die Destillation der Maische (jeweils 47 l pro Brand) erfolgte mittels einer 50 l-Brennereianlage mit aufgesetzter Verstärkerkolonne mit drei Patentböden (Siebböden) und einem Kastendephlegmator sowie einer Brennereisteuerung (beides: Carl, Eislingen, Deutschland). Die Böden sind manuell separat zuschaltbar. Der Dephlegmator wird über einen eigenen Wasseranschluss gespeist und bleibt während der ganzen Brennphase konstant. Die Destillationssteuerung erfolgt über die Einstellungen verschiedener Parameter in drei Aufheizphasen und vier Brennphasen. In der ersten Aufheizphase wird die Heizleistung (% Dampf von max. 1 bar Überdruck – in diesem Versuch 85 % (0,85 bar Dampf)), mit der die Maische bis zum Übergang in die zweite Aufheizphase aufgeheizt wird, eingestellt. In der zweiten Aufheizphase (Übergang bei gewählter Temperatur in der Blase – in diesem Versuch 85 °C) kann erneut eine Heizleistung (in diesem Versuch 31 %) eingestellt werden. Mit dieser Leistung wird geheizt, bis die Temperatur im dritten Boden eine gewünschte Temperatur erreicht (in diesem Versuch: 73 °C). In der dritten Aufheizphase kann die Heizleistung von Beginn an durch Angabe der gewünschten Start-Heizleistung (z. B. in diesem Versuch 17 %) mit einer gewünschten Steigerung (z. B. in diesem Versuch um 30 %/min) eingestellt werden.

Um den Einfluss der Dephlegmatortemperatur, der Anzahl der aktiven Böden und der Aufheizgeschwindigkeit auf den Verlauf der Leitfähigkeitswerte in den Destillationsfraktionen zu bestimmen, wurden diese Parameter wie in Tabelle 1 ersichtlich variiert. Die restlichen Einstellungen dieses Programms, eigens im Betrieb für die Gegenstromdestillation von Kernobst mit dieser Brennereianlage adaptierte Einstellungen, wurden nicht verändert. Die Destillationsgeschwindigkeit (Brennphasen) wurde konstant mit 4 l/h gewählt.

Der Destillationsprozess wurde jeweils bei 50 %vol. beendet. Das Destillat wurde nach der Vorlage in 250 ml-Glasflaschen in 100 ml-Fractionen

aufgefangen. Die Vor- und Nachlaufabtrennung erfolgte sensorisch und mittels Berechnungsmethode nach Liebminger et al. (2020).

Tab. 1: Varianten und Faktorstufen des faktoriellen Versuchsplans

Varianten	Dephlegmatortemperatur (°C)	Faktoren	
		Anzahl aktiver Böden	Aufheizgeschwindigkeit (%)
1	65	3	17
2	65	1	17
3	75	3	17
4	75	1	17
5	65	3	31
6	65	1	31
7	75	3	31
8	75	1	31

Analysenmethoden

Der Alkoholgehalt wurde mittels Biegeschwinger DMATM 35 (Paar, Graz, Österreich) in den Glasflaschen bestimmt. Die Vor- und Nachlauf-fractionen wurden nach der sensorischen Beurteilung der Vor- und Nachlaufumschaltpunkte in Vor-, Mittel- und Nachlauf-fractionen vereint und davon das Gewicht (in g) (Ausbeute) und der Alkoholgehalt (in %vol.) bestimmt. Vom Mittellauf wurde auch die Ausbeute in ml rA ermittelt.

Die LF-Werte wurden mittels Handmessgerät (Multi 3620 IDS und LF-Elektrode-TetraCon 925; WTW, Weilheim, Deutschland) bestimmt. Die Messungen wurden sowohl direkt online nach dem Kühler in einem separaten Behälter (ca. 100 bis 120 ml) zwischen Kühler und Vorlage vom Start bis zum Ende der Destillation (alle 10 sec) bzw. innerhalb einer Stunde in den Glasflaschen, mithilfe derer der Brand in 100 ml-Fractionen aufgefangen wurde, durchgeführt.

Zur Beschreibung des ersten Peaks der LF-Werte zu Beginn der Brennphase wurden die Werte von Beginn bis zum Ende des Peaks gemittelt bzw. aufsummiert (bis zum tiefsten Wert der LF in der Anfangsphase) (Abb. 1).

Weiters wurden zur Charakterisierung des LF-Verlaufs sowohl der maximale und der minimale Wert in den Glasflaschen ermittelt als

auch die Steigerung der Werte vom Übergang Vorlauf zu Mittellauf bis zum Übergang Mittellauf zu Nachlauf erfasst.

Die Aufheizzeit gibt die Zeit in Minuten wieder, die vom Start der Destillation bis zur ersten Vorlauf-fraction (Beginn des Destillatflusses) benötigt wurde. Die Brennzeit ist die Zeit in Minuten von der ersten Vorlauf-fraction bis zum Ende des Destillationsprozesses bei 50 %vol.

Statistische Auswertung

Alle Versuche (faktorieller Versuchsplan 2³) wurden mit Wiederholung durchgeführt. Die Bestimmung der Effekte der Versuchsparameter erfolgte nach Kleppmann (2003) und Statgraphics 19. Die Mittelwerte und die Standardabweichung sowie Varianz und Effekte (Signifikanzniveau, $\alpha = 0,05$) wurden mittels MS Excel ermittelt.

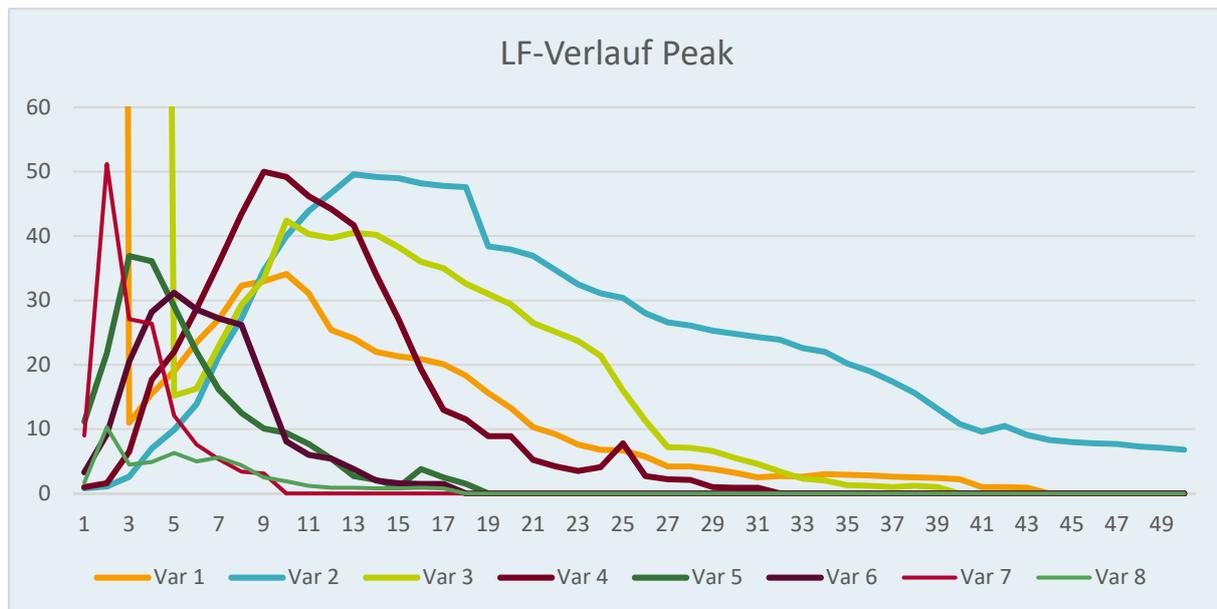


Abb. 1: Verlauf der Leitfähigkeit zu Beginn der Brennphase (Anfangspeak) der Varianten (Die Kurven starten jeweils mit dem ersten Anstieg der Leitfähigkeit.) (Abszisse: Zeit: 1 Einheit = 10 sec)

Ergebnisse

In Tabelle 2 sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der ausgewählten Zielgrößen zusammengefasst. In Tabelle 3 sind die Haupteffekte der Faktoren und die Faktorwechselwirkungen sowie deren Signifikanz (fett) dargestellt.

Die Aufheizphase dauerte durchschnittlich 25 min (T) (Tab. 3). Einen signifikanten Einfluss auf die Aufheizzeit zeigt die Wechselwirkung (WW) AC, also die WW der beiden Faktoren Dephlegmatortemperatur (A) und Destillationsgeschwindigkeit (C). Bei höherer Dephlegmatortemperatur bewirkt die schnellere Aufheizgeschwindigkeit in der letzten Aufheizphase eine merkbare Verkürzung der Aufheizzeit. Die Brennzeit (durchschnittlich 53 min) wird durch die geänderten Prozessparameter nicht signifikant beeinflusst.

Alle gewählten Faktoren hatten einen signifikanten Effekt auf den maximal erreichten Alkoholgehalt in den Glasflaschen (durchschnittlicher max. Alkoholgehalt in den Flaschen T = 85 %vol.). Während die Dephlegmatortemperatur und die Aufheizgeschwindigkeit einen signifikanten Haupteffekt auf die maximale Alkoholstärke hatten, wies die Anzahl der aktiven Böden nur eine signifikante WW mit der Dephlegmatortemperatur auf. Der Effekt der Böden auf die Verstärkung war bei hoher Dephlegmatortemperatur größer als bei einer niedrigen.

Trotz gleicher Einstellungen bei der Brennereisteuerung zeigen die Ergebnisse (z. B. bei der max. Alkoholstärke in den Flaschen bei Variante 7 sowie Verlauf der Leitfähigkeit) bei den Wiederholungen größere Schwankungen. Vermutlich liegt der Grund für die Unterschiede in den abweichenden Temperaturen der Kolonne. Manche Brände wurden unmittelbar nach dem Dämpfen (Vorbereitung für den ersten Brand pro Tag) durchgeführt, andere erst eine Stunde nach Ende des vorherigen Brandes. Schon kleine Temperaturdifferenzen beim Aufheizprozess scheinen einen merkbaren Einfluss auf den Verlauf des Destillationsprozesses und der LF zu haben. Auch García-Llobodanin et al. (2011) berichteten, dass die Reproduzierbarkeit in Verstärkerkolonnen bzgl. Inhaltsstoffe in Birnenbränden nicht exakt möglich ist, weil der Rückfluss, der generell sehr schwer messbar ist, nicht konstant bleibt.

Besonders auffällig sind die maximalen Werte der Peaks zu Beginn der Varianten 1 und 3. Wie aus den berechneten Effekten in Tabelle 3 ersichtlich, sind dafür die größere Anzahl an aktiven Verstärkerböden und die geringere Aufheizgeschwindigkeit (beide bewirken eine höhere Verstärkung des Alkoholgehaltes) verantwortlich (Faktoren B, C, BC). Dies zeigt auch der gemittelte Wert der LF des Peaks zu Beginn der Brennphase (B, C). Werden die LF-Werte der einzelnen Messungen beim Peak aufsummiert, so konnte nur die Aufheizgeschwindigkeit als signifikanter Einflussfaktor berechnet werden. Der Verlauf der LF

beim Anfangspeak ist sehr unterschiedlich (Abb. 1). Der maximale Wert scheint hier für den weiteren Verlauf der LF in der Brennphase eine geringere Rolle zu spielen als die Summe der LF. Es wird vermutet, dass die extremen max. Werte der Peaks bei Variante 1 und 3 eventuell auch durch die Anreicherung von SO₂ verursacht wurden (günstige Kombination von vielen aktiven Böden und geringer Destillationsgeschwindigkeit. Die Verläufe der LF zu Beginn der Brennphase (Anfangspeak) (Abb. 1) und während des Mittellaufs inklusive Beginn des Nachlaufes (Abb. 2) zeigen, dass bei den Varianten, wo die Verstärkung höher war (vor allem mit kühlerem Dephlegmator (Varianten 1,2,5,6), aber auch jeweils mit mehr aktiven Böden (Varianten 1,3,5,7) und bei geringerer Aufheizgeschwindigkeit (Varianten 1,2,3,4) die LF später einen anderen Verlauf nimmt als bei geringerer Verstärkung. Die Varianten 1 bis 4 haben meist größere Peaks (größere Maximalwerte bzw. ein höheres Niveau über einen längeren Zeitraum) und somit ein niedriges Niveau zu Beginn des Mittellaufes. Bei höherer Aufheizgeschwindigkeit (Varianten 5,6,7,8) ist der Einfluss der Verstärkung deutlicher erkennbar. Die niedrigere Dephlegmatortemperatur bei Variante 5 und 6 führt noch zu einem niedrigeren Niveau der LF im Mittellauf, aber bei nur einem aktiven Boden bei Variante 6 bereits zu einem deutlichen Anstieg während des Mittellaufes. Bei den Varianten 7 und 8 steigt die LF bereits im bzw. nach dem Vorlauf deutlich an, weil die höhere Dephlegmatortemperatur in Kombination mit einer schnelleren Aufheizgeschwindigkeit vermutlich die längeren Fettsäuren zu Beginn nicht mehr ausreichend aufkonzentrieren kann. Aber auch Variante 3 und 4 (geringe Verstärkung) weisen trotz geringer Aufheizgeschwindigkeit einen raschen und starken Anstieg der LF im Mittellauf auf.

Nur die Destillationsgeschwindigkeit hat einen signifikanten Effekt auf die Peak-Summe. Liebinger et al. (2021b) konnten zeigen, dass nicht-wasserlösliche Fettsäuren (ab C6) für diesen Peak mitverantwortlich sind. Bedingt durch die höhere Verstärkung in der Aufheizphase werden diese vermehrt aus der Maische herausdestilliert. Die LF-Werte in den Fraktionsflaschen (gemittelter Wert von 100 ml) zeigen diesen signifikanten Effekt jedoch nicht. Dies unterstreicht die Bedeutung des Messortes der LF. Diese sollte unmittelbar nach dem Kühler in einem kleinen Gefäß gemessen werden, damit es nicht zu großen Durchmischungen der Fraktionen kommt.

Auch bei den minimalen Werten der LF in den Glasflaschen der verschiedenen Varianten konnten keine signifikanten Effekte der ausgewählten Faktoren beobachtet werden.

Die Änderung (Anstieg) der LF während des Mittellaufes (wichtiger Wert für die Beschreibung des LF-Verhaltens des Brandes) lag im Mittel bei 1,8 µS/cm. Die Dephlegmatortemperatur wirkte sich signifikant auf die Veränderung aus. Je niedriger die Dephlegmatortemperatur war, desto geringer war der Anstieg. Diese Erfahrung machten die Autoren auch schon in früheren Versuchen. Bei hoher Verstärkung (Variante 1) bleibt die LF über einen längeren Zeitraum auf niedrigerem Niveau und sehr stabil (Gössinger et al., 2020). Erst um den Nachlauf-Punkt kommt es zu einem Anstieg der LF. Die anderen Faktoren zeigten keinen signifikanten Effekt auf den Anstieg im Mittellauf.

Die LF am N-Punkt (durchschnittlich bei 2,8 µS/cm) liegt bei einer kühleren Dephlegmatortemperatur auf einem signifikant niedrigerem Niveau. Die anderen Faktoren haben keinen deutlichen Einfluss auf diesen Parameter.

Die ausgewählten Faktoren hatten einen unterschiedlichen Einfluss auf die Verstärkung (%vol.) und Ausbeuten (g) der Fraktionen. Eine geringere Aufheizgeschwindigkeit (C) führte zu einem signifikant höheren Alkoholgehalt im Vorlauf. Die Menge des Vorlaufs wurde nicht merkbar von den Faktoren beeinflusst. Die Alkoholstärke des Mittellaufs wurde durch die Absenkung der Dephlegmatortemperatur (A) deutlich erhöht. Die Mittellaufmenge wurde sowohl durch eine geringere Dephlegmatortemperatur (A) als auch eine höhere Anzahl an aktiven Böden (B) sowie eine geringere Aufheizgeschwindigkeit bei kühlerem Dephlegmator (BC) signifikant erhöht. Die Ausbeute Mittellauf in ml rA wurde von allen Faktoren (auch Aufheizgeschwindigkeit C, weil Wechselwirkung ABC signifikant ist) sowie den Wechselwirkungen AC, BC und ABC signifikant beeinflusst. Die Ausbeute wurde durch eine höhere Verstärkung jeweils erhöht. Die Nachlaufmenge hingegen wurde durch eine höhere Dephlegmatortemperatur (A) und geringere Aufheizgeschwindigkeit (C) deutlich erhöht. In Kombination (WW - AC) ist dieser Effekt noch stärker. Dieser Effekt wurde auch schon bei früheren Untersuchungen beobachtet (Gössinger und Lehner, 2007). Es wird vermutet, dass der Einfluss des Alkoholgehaltes auf die LF-Messung (je höher der Alkoholgehalt, desto geringer die LF-Werte)

(Personna et al., 2013) diesen Effekt auch mit beeinflussen.

Der Verlauf der LF wirkt sich auf die Aromaintensität des Brandes aus (Liebminger et al., 2021a und 2021b). Je geringer der Verlauf der LF im Mittellauf ist, desto schlanker und "eindimensionaler" sind die sensorischen Eigenschaften des Brandes. Wenn die LF-Werte zu rasch ansteigen (Variante 7 und 8) sind die Brände meist unsauber und dumpf, weil die unerwünschten schwerflüchtigen Komponenten nicht ausreichend aus den Mittellauffractionen abgeschieden werden können. Der Nachlauf (N-Punkt) beginnt dann schon relativ früh.

Die sensorischen Ergebnisse zeigen sehr deutlich, dass innerhalb der gewählten Faktorstufen die optimalen Destillationsbedingungen für Apfel liegen. Während Variante 1 sehr sauber und schlank ist, sind die Varianten 7 und 8 schon dumpf und "unsauber". Wie in der Literatur immer erwähnt, ist ein langsamer Beginn der Brennphase (geringer Fluss) sehr wichtig für die Qualität des Brandes (Dürr et al., 2010) Die LF ist ein sehr guter Parameter, um diesen zu beschreiben.

Diskussion

Der Verlauf der LF im Vor-, Mittel- und Nachlauf ist merkbar von der Verstärkung (Dephlegmator, aktive Böden und Geschwindigkeit) während der Aufheizphase abhängig. Wie schon Liebminger et al. (2021b) zeigten, besteht ein Zusammenhang zwischen dem Niveau der LF sowie der Verstärkung im Mittellauf und der Peakgröße zu Beginn der Brennphase. Die Messung der LF bringt mehr Information über die Verstärkungsvorgänge und die Zusammensetzung der Destillatfraktionen während der Destillation und kann so eventuell die Reproduzierbarkeit in der Obstbrennerei verbessern. Die LF-Messung kann als Basis für die Einstellungen am Brenngerät in der Aufheiz- und

Brennphase dienen und so die Qualität der Obstdestillate verbessern (Liebminger et al., 2021a und 2021b).

Die Ergebnisse zeigen, dass die Messung der LF in hoher Frequenz (mind. sechsmal pro Minute) unmittelbar nach dem Kühler (noch vor der Vorlage) in einem kleinen Behälter online dem Brenner mehr Information bringt als die Messung in den Glasflaschen.

Üblicherweise wird bei der Obstdestillation besonders auf die Verstärkung während der Brennphase geachtet. Diese beeinflusst die Ausbeute und den Verlauf der LF mit. Der Zusammenhang zwischen der Peakgröße zu Beginn der Brennphase und dem weiteren Verlauf (und somit auch die Qualität des Brandes) wird aber auch durch die Aufheizphase entscheidend geprägt. Die Beachtung der LF scheint daher für die Qualität des Brandes entscheidender zu sein als der Alkoholgehalt der Fraktionen. Dieses Wissen kann die Strategie der Obstbrennerei grundlegend verändern.

Tab. 2: Mittelwerte und Standardabweichung ausgewählter Antwortgrößen

Varianten	Peak max LF Elektrode	Peak max LF in Flasche	Peak Mittel	Peak Summe
1	445,0 ± 45,3	3,8 ± 0,5	33,8 ± 8,8	981 ± 254
2	25,6 ± 5,6	3,7 ± 2,3	5,3 ± 5,4	224 ± 201
3	394,0 ± 176,8	3,6 ± 0,1	50,8 ± 32,8	1469 ± 1375
4	19,6 ± 4,0	3,1 ± 0,6	11,2 ± 1,1	267 ± 11
5	19,8 ± 4,2	3,9 ± 2,0	7,8 ± 0,2	112 ± 13
6	16,5 ± 17,7	2,7 ± 0,4	8,2 ± 8,8	108 ± 131
7	31,5 ± 22,5	2,8 ± 0,8	8,1 ± 3,8	73 ± 34
8	5,2 ± 4,3	2,2 ± 0,1	2,5 ± 1,6	24 ± 20

LF Steigerung im ML	Alk max FI	N-Punkt	min LF FI	LF bei N-Punkt	ML %vol.	ML Menge g
0,3 ± 0,1	88,7 ± 0,1	80,5 ± 0,5	0,7 ± 0,2	1,0 ± 0,1	85,3 ± 0,1	1260 ± 1
0,45 ± 0,1	87,3 ± 0,1	80,8 ± 2,0	0,8 ± 0,3	1,3 ± 0,2	84,4 ± 0,6	759 ± 66
2,4 ± 0,5	83,3 ± 1,8	71,0 ± 3,5	0,9 ± 0,3	3,4 ± 0,8	76,1 ± 4,2	750 ± 110
3,4 ± 0,8	84,7 ± 1,4	74,1 ± 0,6	0,9 ± 0,1	4,4 ± 0,8	78,7 ± 0,0	559 ± 97
1,0 ± 0,8	85,0 ± 0,2	81,2 ± 0,9	1,0 ± 0,4	1,9 ± 1,1	83,9 ± 0,1	1085 ± 140
1,7 ± 0,2	85,3 ± 0,8	80,6 ± 1,2	1,5 ± 0,6	2,9 ± 0,0	83,7 ± 0,3	1009 ± 63
2,8 ± 2,3	80,7 ± 3,1	71,6 ± 2,7	1,3 ± 0,1	4,1 ± 2,2	75,7 ± 3,7	668 ± 28
2,5 ± 1,8	85,6 ± 1,6	74,3 ± 0,4	0,8 ± 0,4	3,6 ± 2,5	80,2 ± 2,1	554 ± 13

NL %vol.	NL Menge g	VL %vol.	VL Menge g	Zeit Aufheizen min	Zeit Brennen min
65,1 ± 1,1	1005 ± 283	84,0 ± 4,0	288 ± 98	22,5 ± 2,1	54,5 ± 4,9
66,6 ± 0,4	1550 ± 310	83,6 ± 0,4	386 ± 8	20,5 ± 4,9	55 ± 7,1
59,7 ± 1,6	1755 ± 108	79,1 ± 0,1	413 ± 132	44,0 ± 19,8	55,5 ± 0,7
62,1 ± 0,6	1801 ± 25	80,7 ± 2,3	387 ± 120	28,0 ± 2,8	54,0 ± 2,8
66,6 ± 0,6	1634 ± 229	78,8 ± 1,5	312 ± 4	23,0 ± 1,4	56,0 ± 1,4
66,1 ± 0,8	1794 ± 6	79,0 ± 2,7	290 ± 43	24,0 ± 1,4	56,0 ± 1,4
61,7 ± 2,2	1807 ± 10	77,2 ± 1,8	296 ± 62	19,5 ± 2,1	51,5 ± 6,4
61,3 ± 0,8	1731 ± 120	82,1 ± 1,8	358 ± 70	18,5 ± 6,4	46 ± 4,2

Tab. 3: Effekte (Hauptwirkungen und Wechselwirkungen) der ausgewählten Faktoren auf die Antwortgrößen und Signifikanz (fett)

		75°C/65 Temp Deph	1B/3 Böden	31%/17 Geschwindigkeit				
	T	A	B	C	AB	AC	BC	ABC
Zeit Aufheizen min	25,00	-5,00	4,50	7,50	-4,00	-9,50	4,50	-3,00
Zeit Brennen min	53,56	3,63	1,63	2,38	-1,88	-3,63	-1,13	0,88
Peak Mittel	15,95	-4,37	18,33	18,65	-4,28	-7,05	15,75	-1,29
LF Peak Summe	407,31	-101,68	503,08	656,10	-122,58	-164,00	476,60	-100,05
LF Steigerung im ML	1,79	-1,91	-0,41	-0,34	-0,01	-0,59	-0,19	0,46
Peak max LF Elektrode	119,63	14,13	205,88	202,83	5,50	14,35	191,05	17,03
Peak max LF Flasche	3,20	0,60	0,58	0,63	0,08	-0,23	-0,30	-0,25
min LF Flasche	0,97	0,01	-0,04	-0,34	-0,31	-0,16	-0,01	0,21
LF bei N-Punkt	2,79	-2,09	-0,46	-0,64	-0,19	-0,66	-0,19	0,54
Alk max Flasche	85,05	2,97	-1,30	1,88	1,83	1,00	1,28	-0,45
N-Punkt	76,73	8,01	-1,39	-0,31	1,51	0,09	-0,36	-0,11
VL %vol.	80,53	1,58	-1,58	2,58	1,65	2,30	1,00	-0,67
VL Menge g	340,94	-44,63	-27,88	54,38	-9,88	-18,63	-8,38	-51,88
ML %vol.	80,99	6,65	-1,53	0,22	2,05	0,80	0,63	-0,30
ML Menge g	830,25	395,25	220,75	2,75	68,00	-40,50	125,50	86,75
NL %vol.	63,61	4,92	-0,75	-0,55	0,25	0,05	-1,23	0,18
NL Menge g	1634,56	-277,63	-168,63	-213,88	-183,88	-222,63	-126,63	-65,88

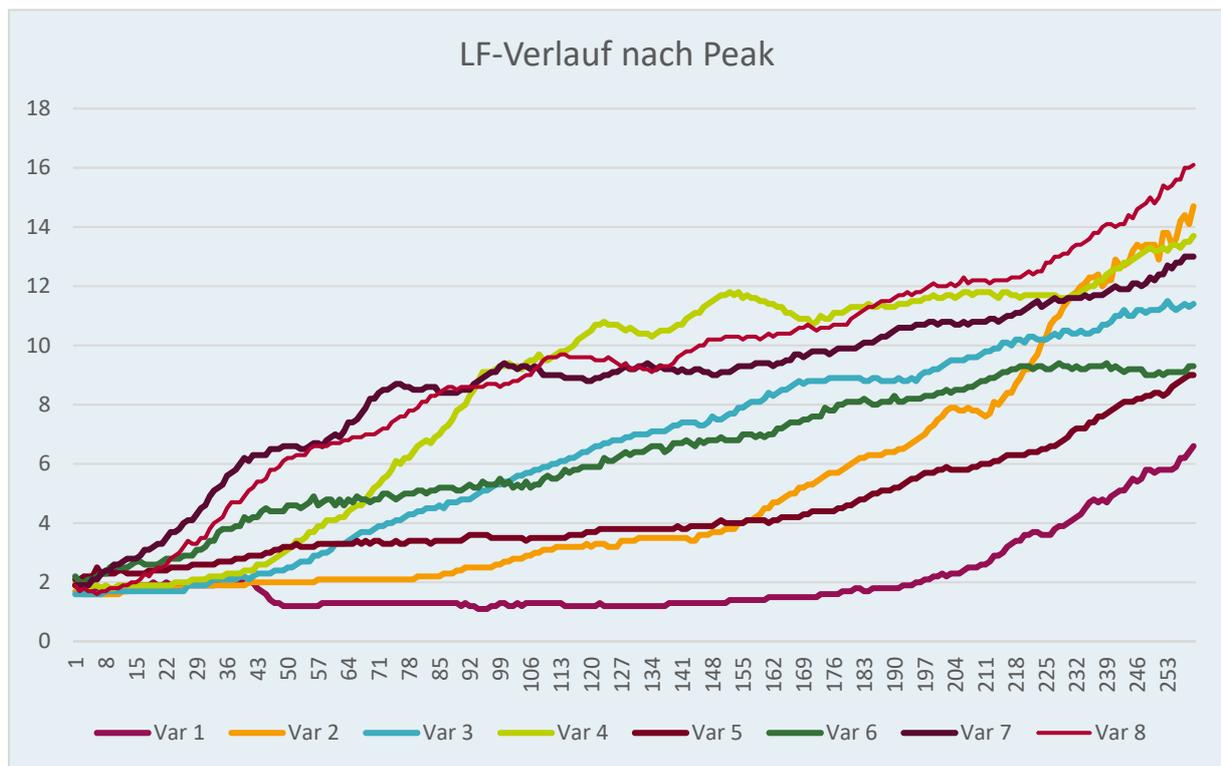


Abb. 2: Verlauf der Leitfähigkeit während der Destillation bei den Varianten (Die Kurven starten mit dem niedrigsten Wert nach dem Anfangspeak und reichen unterschiedlich weit in den Nachlauf.) (Abszisse: Zeit: 1 Einheit = 10 sec)

Literatur

Donabaum, C. 2009: Evaluierung chemischer und physikalischer Parameter zur Nachlaufabtrennung von Stein- und Kernobstdestillaten. Diplomarbeit BOKU Wien

Dürr, P., Albrecht, W., Gössinger, M., Hagmann, K., Pulver, D., Scholten, G. 2010. Technologie der Obstbrennerei. 3. Aufl. – Stuttgart: Ulmer Verlag, 2010

García-Llobodanin, I., Roca, J., López, J.R., Pérez-Correa, J.R., López, f. 2011: The lack of reproducibility of different distillation techniques and its impact on pear spirit composition. *Int. Journal of Food Science and Technology* 46: 1956-1963.

Gössinger, M., Eitner, C., Brandes, W., Vogl, K. 2011: Einfluss verschiedener Prozessparameter auf wichtige Kenngrößen bei der Gleichstromdestillation von Apfelmaische. *Mitteilungen Klosterneuburg* 61: 111-118.

Gössinger, M., Eitner, C., Brandes, W., Vogl, K. 2012: Einfluss verschiedener Prozessparameter auf wichtige Kenngrößen bei der Gegenstromdestillation von Apfelmaische. *Mitteilungen Klosterneuburg* 62: 45-56.

Gössinger, M., Lehner, F. 2007: Einfluss des Destillationsverfahrens und der Dephlegmatortemperatur auf technologische und sensorische Kenngrößen bei Obstdestillaten. *Mitteilungen Klosterneuburg* 57: 83-93.

Gössinger, M., Liebming, A., Klaffner, c. 2020: Die Leitfähigkeit in der Qualitätskontrolle in der Brennerei. 18. IfGB Forum, 5-8.10.2020. Graz

Graf, M., Göllés, D., Machholz, T., Kuenz, F., Brandes, W., Baumann, R., Jäger, H., Gössinger, M. 2020: Einfluss von Vakuumdestillation auf sensorische und analytische Parameter von Obstbränden. *Mitteilungen Klosterneuburg* 70: 157-187.

Kleppmann, W. 2003: Taschenbuch Versuchsplanung, München: Verlag Carl Hanser, 2003, 3. Aufl.

Liebinger, A., Holstein, M., Dietrich, V., Goessinger, M. 2020: Automated separation of tail fraction for fruit distillates by means of in-line conductivity measurement. *Int. J. Food Sci. Technol.* 55: 3484-3492.
<https://doi.org/10.1111/ijfs.14682>

Liebinger, A., Philipp, C., Sari, S. A., Holstein, M., Dietrich, V., Goessinger, M. (2021a): In-line conductivity measurement to select the best distillation technique for improving the quality of apricot brandies. *Eur Food Res Technol* 247, 1987–1997. <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03766-2>

Liebinger, A., Philipp, C., Sari, S.A., Holstein, M., Dietrich, V., Goessinger, M. (2021b): Monitoring of carboxylic acids by in-line conductivity measurement to determine optimum distillation strategy for distilling apple brandies. submitted

Personna, Y.R., Slater, I., Ntarlagiannis, D., Werkema, D., Szabo, Z. 2013: Electrical signatures of ethanol-liquid mixtures: implications for monitoring biofuels migration in the subsurface. *J Contam Hydrol.* 144(1): 99-107. doi: 10.1016/j.jconhyd.2012.10.011. Epub 2012 Nov 1. PMID: 23159764

WTW, 2019: Leitfähigkeitsfibel – Theorie der Messtechnik und Tipps für die Praxis. Xylem Analytics Germany, Weilheim, 2019
Eingelangt am 16. September 2021

Verwendung des Kürbissaftes aus der Produktion von "Steirisches Kürbiskernöl ggA" als Mischungspartner zur Herstellung eines Mischsaftes mit geringerem Kaloriengehalt

Manfred Gössinger¹, Martin Gutternigg², Jean-Pierre Sageder³, Leopold Pilsbacher³, Theresa Schwabl¹ und Cordula Klaffner¹

¹ Höhere Bundeslehranstalt und Bundesamt für Wein- und Obstbau Klosterneuburg
Abteilung Obstverarbeitung
A-3400 Klosterneuburg, Wienerstraße 74

² Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH (AGES)
Institut für Lebensmittelsicherheit Wien, Geschäftsfeld Lebensmittelsicherheit
A-1220 Wien, Spargelfeldstraße 191

³ Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH (AGES)
Institut für Lebensmittelsicherheit Linz, Geschäftsfeld Lebensmittelsicherheit
A-4020 Linz, Wieningerstraße 8
E-Mail: manfred.goessinger@weinobst.at

In dieser Arbeit wurde versucht, gleichzeitig eine Lösung für die beiden heute intensiv diskutierten Themen "Nachhaltigkeit" und "Hoher Energiegehalt von Fruchtsäften" zu finden. Dabei wurde das "Nebenprodukt" Kürbissaft aus der Produktion des Steirischen Kürbiskernöls ggA als möglicher Mischungspartner für Apfelsaft zur Kalorienreduktion untersucht. Der Kürbissaft wurde erstmals auf ausgewählte Parameter untersucht, in unterschiedlichen Mengen (10 bis 40 %) einem Bio-Apfelsaft beigemischt und der Mischsaft einer sensorischen Beurteilung durch Konsumenten unterzogen. Die Ergebnisse zeigen, dass der Gehalt an vielen Inhaltsstoffen unter jenen von aus der Literatur bekannten Kürbissen liegt. Der Energiegehalt der untersuchten Kürbissäfte lag mit 8 bis 10 kcal/100 ml im Vergleich zu Apfelsaft um 80 % niedriger. Signifikant höhere Gehalte konnten jedoch bei Nicotinsäureamid (ca. 20 mg/l) beobachtet werden. Somit stellt der Mischsaft Apfel-Kürbissaft auch aus ernährungsphysiologischer Sicht eine interessante Alternative zu Apfelsaft dar. Die sensorische Beurteilung der Säfte zeigt, dass ein Zusatz von 10 % Kürbissaft zu Apfelsaft von den Konsumenten sehr gut angenommen wurde. Ein Apfel-Kürbissaft mit einem Zusatz von bis zu 30 % Kürbissaft würde auch von einem großen Teil der Konsumenten (40%) noch gekauft werden.

Schlagwörter: Fruchtsaft, Apfelsaft, Gemüsesaft, weniger Kalorien, Konsumentenakzeptanz

Suitability of pumpkin juice from the production of "Steirisches Kürbiskernöl ggA" as blending partner for a juice blend with respect to calory reduction. This study into fruit juices focussed on two frequently discussed issues: sustainability and sugar reduction. The suitability of the juice of a special pumpkin ('Gleisdorfer Ölkürbis', used in the production of the "Steirisches Kürbiskernöl ggA" in Austria) as a blending partner for apple juice was investigated with respect to calory reduction in the resulting juice. Selected parameters of the pumpkin juice were analysed for the first time and varying amounts (10 to 40 %) of the pumpkin juice were added to an organic apple juice. Consumer acceptance for the juice blends was investigated. Results show that the values of many contents of the pumpkin juice are lower than in literature. The calory contents (8 to 10 kcal/100 ml) are lower by 80 % than those of apple juice. The content of nicotinic acid amide (about 20 mg/l), however, is significantly higher than in apple juices. From a nutritional point of view this juice blend therefore is an interesting alternative for pure apple juices. The sensory evaluation confirms that the addition of up to 10 % pumpkin juice to apple juice had a very good consumer acceptance. Even a juice blend with the addition of 30 % pumpkin juice to apple juice would be bought by many of the consumers (40 %).

Keywords: fruit juice, apple juice, vegetable juice, calory reduction, consumer acceptance

Steirisches Kürbiskernöl ggA hat in Österreich große Bedeutung. Der durchschnittliche jährliche Pro-Kopf-Verbrauch an steirischem Kürbiskernöl lag in Österreich 2018 bei 0,6 l. Seine auffallend grün-braune Farbe (dichroitisch), bedingt durch den Verlust der Schale, macht das Öl neben dem einzigartigen Geschmack zu einem "eye-catcher" (www.steirisches-Kürbiskernöl.eu, 2021).

Auf einer Fläche von ca. 36 000 ha in Niederösterreich, Burgenland und Steiermark wurden 2020 von 3100 Mitgliedern des Erzeugerrings "Gemeinschaft Steirisches Kürbiskernöl ggA" ca. 20 000 Tonnen getrocknete Kürbiskerne erzeugt (Pro Hektar, 2021; www.steirisches-Kürbiskernöl.eu, 2021).

Neben den Kürbiskernen fallen pro ha ca. 20 000 kg Kürbis-Fruchtfleisch an, das bis heute bei der Ernte ausschließlich auf dem Feld verstreut zurückbleibt, da keine gewinnbringende Verwendung des Fruchtfleisches bekannt ist. Auf Grund des eher neutralen Geschmacks als auch des geringen Zuckergehaltes (geringer als bei anderen Kürbissen) wurde dem Kürbisfleisch aus der Kürbiskernölproduktion bis heute noch sehr wenig Beachtung geschenkt.

In der Literatur findet man unterschiedliche Zusammensetzungen von Kürbissen. In den Tabellen 1a und 1b sind diese zusammengefasst. Auf Grund der geringen Gehalte an Kohlehydraten und Säuren war der für die Herstellung des steirischen Kürbiskernöls verwendete Kürbis

(Fruchtfleisch) noch nicht Gegenstand von chemischen Untersuchungen. Gleichzeitig bietet sich genau dieser Kürbis wegen seiner Zusammensetzung als Mischungspartner zur Herstellung von Mischsäften mit reduziertem Energiegehalt an.

Fruchtsäfte sind auf Grund ihres hohen Zuckergehaltes starker Kritik von Ernährungswissenschaftlern und WHO ausgesetzt (Elmadfa, 2012; WHO, 2015a und 2015b). Seit beinahe zwei Jahrzehnten ist die Reduktion des Energiegehaltes vor allem bei Apfelsaft Ziel von wissenschaftlichen Untersuchungen. Dabei wurden schon einige Wege (enzymatisch, mikrobiologisch, technisch) zur Zuckerreduktion in Fruchtsäften beschrieben (Aziz et al., 2011; Yarom und Blachinsky, 2021; Patent, 2019; Schwabl et al., 2020). Diese kalorienreduzierten Getränke dürfen jedoch nicht mehr als "Saft" bezeichnet (gekennzeichnet) werden, weil typische wertgebende Inhaltsstoffe (Kohlenhydrate) fehlen (Fruchtsaftverordnung, 2004). Hinsichtlich Kalorienreduktion wurden auch schon Mischsäfte (mit Gemüse) getestet. Die im Zuge der Behandlung dieser Säfte veränderten sensorischen Eigenschaften werden von den Konsumenten jedoch sehr unterschiedlich angenommen.

Ziel dieser Arbeit ist es, die wertgebenden Inhaltsstoffe der für die Herstellung des Steirischen Kürbiskernöls ggA verwendeten Kürbisse zu bestimmen und den aus dem Fruchtfleisch gewonnenen Saft zur Herstellung von Mischsäften mit geringerem Energiegehalt sensorisch zu testen (Akzeptanz bei Konsumenten).

Tab. 1a: Chemische Analysenwerte der untersuchten Kürbissäfte (Saft 1 und Saft 2) sowie Analysenwerte von Kürbis und Apfel sowie Apfelsaft aus der Literatur: Hui et al, 2004 (1), Sinha et al., 2011 (2), Hui et al., 2016 (3), Souci et al, 2008 (4)

		Kürbissaft 1	Kürbissaft 2	(1) Kürbis	(2) Kürbis	(3) Kürbis	(4) Kürbis	(4) Apfel	(4) Apfelsaft
Citronensäure	g/l	0,38 ± 0,05	0,35 ± 0,05				0,065	0,3	0,09
Milchsäure	g/l	unter 0.1	unter 0.1						0,17
Äpfelsäure	g/l	2,8 ± 0,14	3,1 ± 0,16				1,99	4,2	7,4
Bernsteinsäure	g/l	unter 0.1	unter 0.1						
Essigsäure	g/l	unter 0.1	unter 0.1						
Thiamin	mg/l	0,15 ± 0,015	0,27 ± 0,027		0,4 - 0,5	0,5	0,47	0,35	0,2
Riboflavin	mg/100 ml	0,015 ± 0,0015	0,018 ± 0,0018		0,3 - 0,8	1,1	0,65	0,032	0,25
Riboflavinderivate	mg/l	unter 0.006	unter 0.006						
Pyridoxin	mg/l	unter 0.004	unter 0.004			0,61	1,1	1,03	0,96
Cyanocobalamin	µg/l	unter 0.6	unter 0.6						
Folsäure	mg/l	unter 0.4	unter 0.4		nn	0,16	0,36	0,75	0,31
Nicotinsäure	mg/l	1,6 ± 0,25	0,6 ± 0,25						
Nicotinsäureamid	mg/l	16,8 ± 1,70	22 ± 2,20		4,0 - 9,0	6	5	3	3
Pantothensäure	mg/l	3 ± 0,6	4 ± 0,8			2,98	4	1	0,55
D,L-Panthenol	mg/l	unter 0.2	unter 0.2						
l-Ascorbinsäure	mg/l	unter 10	unter 10		4,0 - 20,0	90	120	120	14
Isoascorbinsäure	mg/l	unter 5	unter 5						
Propionsäure	g/l	unter 0.2	unter 0.2						
Stärke	g/100 g	unter 0.5	unter 0.5			nn	0,7		
beta-Carotin	µg/100g	unter 10	unter 30			3100	583	29	45
Vit D2	IE/kg	unter 200	unter 200						
Vit D3	IE/kg	unter 60	unter 180						
Vit E	mg/100 g	unter 0.02	unter 0.02			1,06	1,1	0,49	
Na	mg/l	4 ± 2	2 ± 1			10	31	12	22
Ca	mg/l	225 ± 34	184 ± 28		200 - 660	210	220	53	69
Cu	mg/l	0,32 ± 0,05	0,4 ± 0,06			1,27	0,8		
Fe	mg/l	2,6 ± 0,9	16,3 ± 2,4		3,0 - 5,0	8	8		
K	mg/l	2937 ± 440	2494 ± 374			3400	3040	1190	1160
Mg	mg/l	112 ± 17	106 ± 16			120	80	54	42
Mn	mg/l	0,23 ± 0,05	0,66 ± 0,1			1,25	0,66	0,43	1,2
P	mg/l	92 ± 14	111 ± 17			440	440		
Zn	mg/l	1,24 ± 0,31	1,64 ± 0,41			3,2	2	0,99	
Ni	mg/l	0,04 ± 0,01	0,1 ± 0,02						
Al	mg/l	0,8 ± 0,2	17,9 ± 2,7					0,66	
Cr	mg/l	0,019 ± 0,009	0,07 ± 0,01				0,02		

Tab. 1b: Chemische Analysenwerte der untersuchten Kürbissäfte (Saft 1 und Saft 2) sowie Analysenwerte von Kürbis und Apfel sowie Apfelsaft aus der Literatur: Hui et al, 2004 (1), Sinha et al., 2011 (2), Hui et al., 2016 (3), Souci et al, 2008 (4)

				(1)	(2)	(3)	(4)	(4)	(4)
		Kürbissaft 1	Kürbissaft 2	Kürbis	Kürbis	Kürbis	Kürbis	Apfel	Apfelsaft
Trockenmasse	g/100g	3,9	3,3						
Wassergehalt	g/100g	96,1	96,7	80-96		91,6	91	84,9	88,1
Stickstoff	mas%	unter 0.2	unter 0.2				0,18		
Eiweiß	g/100g	0,43	0,28	0,6 - 1,8		1	1,1		0,01
Fett	g/100g	0 ± 0,1	0 ± 0,1			0,1			0,07
Asche	g/100g	0,85 ± 0,07	0,75 ± 0,07			0,8			
Fructose	g/100g	0,9 ± 0,1	0,8 ± 0,1				1,32	5,736	6,4
Glucose	g/100g	0,9 ± 0,1	0,7 ± 0,1		1,54 - 1,84		1,505	2,029	2,4
Saccharose	g/100g	0,3 ± 0,0	unter 0,3				1,065	2,546	1,7
Maltose	g/100g	unter 0.1	unter 0.1						
Lactose	g/100 g	unter 0.1	unter 0.1						
Energie	kJ/100 ml	44	35				104	228	203
Energie	kcal/100 ml	10	8	15-36	26	26	25	54	48
Fett	g/100g	0	0	bis 0,2	0,1	0,1	0,13	0,58	
gesättigte Fettsäuren	g/100g	0	0						
Kohlenhydrate	g/100g	2,1	1,7	4,9	6,5	6,5	4,59	11,4	11,1
Zucker	g/100g	2,1	1,7	2,5 - 3,2		2,76			
Stärke	g/100g	0	0					0,6	
Eiweiß	g/100g	0,4	0,3		1	1		0,34	
Salz	g/100g	0,01	0,01						

Material und Methoden

Rohmaterial und Safterstellung

Für die Untersuchungen wurden Kürbisse ('Gleisdorfer Ölkürbis') von einem Mitglied der Erzeugerorganisation (Bio-Betrieb) in Pillichsdorf (Niederösterreich) (Ende September 2019) herangezogen. Es wurden 188 kg ganze Kürbisse sowie 217 kg zerkleinerte Kürbisse nach der Ernte (Kürbisteile von der Erntemaschine) verwendet. Die ganzen Kürbisse (Saft 1) wurden händisch entkernt und mittels Schleuderfräse (Vorán, Pichl bei Wels, Österreich) zerkleinert, auf ca. 90 °C Kerntemperatur in einem Kochkessel erhitzt und anschließend mittels Bandpresse (Milteco, Anger,

Österreich) heiß entsaftet (Ausbeute 63 bis 66 %). Die bereits am Feld zerkleinerten Kürbisse (Saft 2) wurden innerhalb von wenigen Stunden nach der Ernte ebenfalls erhitzt und anschließend sofort entsaftet. Der Rohsaft wurde jeweils in 20 l-Bags gefüllt, eingefroren und bei -20 °C bis zur Weiterverarbeitung gelagert.

Die Äpfel (Sortenmischung) für den Apfelsaft stammten aus den eigenen biologisch geführten Versuchsanlagen der HBLA und BA für Wein- und Obstbau Klosterneuburg. Die Äpfel wurden sortiert, gewaschen, zerkleinert (Rätzmühle; Kreuzmayr, Eferding, Österreich) und mittels Bandpresse (Milteco, Anger, Österreich) entsaftet. Der Apfelsaft wurde mit 150 mg/l L-Ascorbinsäure versetzt und anschließend einer HTST-Behandlung unterzogen (85 °C, 50 sec)

und mittels Zentrifuge (GEA Westfalia Separator, Oelde, Deutschland) vom Grobtrub befreit. Der frische naturtrübe Apfelsaft wurde mit dem aufgetauten Kürbissaft (Saft 1) verschnitten (Kürbissaftanteil: 0 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %), in 1 l-

Glasflaschen gefüllt und anschließend im Kammerpasteur (Kreuzmayr, Eferding, Österreich) bei 85 °C 20 min pasteurisiert. Die Analysenwerte der verwendeten Säfte sind in Tabelle 2 zusammengefasst

Tab. 2: Analysenwerte der verwendeten Säfte

	TA g/l, ber. als ÄS	pH-Wert	°Bx	Zuckergehalt g/l
Kürbissaft 100%	0,7	3,45	3,5	20,4
BIO Apfelsaft	9,1	3,16	13,5	116,3
10% Kürbissaft	8,2	3,25	12,5	106,1
20% Kürbissaft	7,4	3,27	11,5	96,4
30% Kürbissaft	6,6	3,49	10,5	85,7
40% Kürbissaft	5,6	3,61	9,5	76,7

Analysenmethoden

Die Werte der Titrierbaren Säure wurden mittels Titration (pH-Wert: 7,0) bestimmt und als g/l ber. als ÄS angegeben. Die lösliche Trockensubstanz wurde refraktometrisch bestimmt.

Für die Analyse wertgebender Inhaltsstoffe in den Kürbissäften wurden die beiden eingefrorenen Säfte, der aus den ganzen Früchten (Saft 1) sowie der aus den bereits auf dem Feld mittels Erntemaschine zerkleinerten Kürbissen (Saft 2), herangezogen. Die Analysen wurden von der AGES (Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH) durchgeführt (Institut für Lebensmittelsicherheit Wien und Linz, Institut für Tierernährung und Futtermittel Linz).

Die Methoden für die Bestimmung von Trockenmasse (L31.00-18), Asche (L31.00-4), Stickstoff (L01.00-60) und Gesamtfettgehalt (L01.00-20) sind der deutschen amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG entnommen (Methodensammlung BVL, 2021).

Die Bestimmung von Isomalt, Lactit, Maltit, Mannit, Sorbit und Xylit in Lebensmitteln folgt DIN 10758 (modifiziert). Extraktion der Zucker und Zuckeralkohole erfolgte mit Wasser und Acetonitril (1:1): Die extrahierten Stoffe wurden isokratisch mittels Laufmittel (Acetonitril-Wasser 80:20) mittels HPLC (Waters, Milford, USA) auf einer Aminoalkylsilan-Säule inkl. Vorsäule (Nucleodur 100-5 NH2-RP; Macherey-Nagel, Düren, Deutschland) getrennt und durch Detektion mittels Refraktionsindex bestimmt.

Screening von organischen Säuren in Lebensmitteln, HPLC-RID: Die Analyten Citronensäure, L-Weinsäure, L-Äpfelsäure, Bernsteinsäure, L-Milchsäure, Essigsäure und Propionsäure wurden mittels HPLC-RID (Shimadzu, Kyoto, Japan) und zwei unterschiedlichen Säulen (Säule 1: Synergi 4 µ Hydro-RP 250 * 4.6 mm, 5 µm; Laufmittel 1: 0.017M ortho-Phosphorsäurelösung; Säule 2: Aminex Ion Exclusion HPX-87H 300 * 7.8 mm, 9 µm; Laufmittel 2: 0.0065M Schwefelsäurelösung) bestimmt. Dazu wurden die Proben mit 0.01N Kaliumhydroxidlösung neutralisiert und auf ein SAX-Ionentauschersäulchen (mit 4 ml Methanol und 4 ml Wasser konditioniert) bei Raumtemperatur aufgetragen, mit 4 ml Wasser gewaschen und nach dem Trocknen mit 1 ml Elutionslösung (0.3M Schwefelsäure) eluiert und isokratisch auf den HPLC-Säulen getrennt.

Bestimmung wasserlöslicher Vitamine in Getränken mittels HPLC-DAD/FLD gemäß VDLUFA – (Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten e.V.) Methodenbuch III, Wasserlösliche Vitamine 13.9.1 (Verbandsmethode) Bestimmung der wasserlöslichen B-Vitamine, der Nicotinsäure und des Nicotinsäureamids mittels HPLC-Verfahren: In ein HPLC-Vial wurden 470 µl Wasser, 10 µl Ascorbinsäurelösung (10 g/l), 20 µl 32 %ige Salzsäure und 500 µl Probenlösung mittels entsprechender Kolbenhubpipette pipettiert und gemischt. Der Gehalt der Analyten wurde mit der HPLC (Shimadzu, Kyoto, Japan) (Trennsäule: Kinetex 5 µmXB-C18 250 *

4,6 mm; Eluent A: 1 g Trifluoressigsäure/l Wasser; Eluent C: Methanol; Gradient: 0 min. 100 % A 0 % C, 6.0 min. 100 % A 0 % C, 28.0 min. 30 % A 70 % C, 32.0 min. 30 % A 70 % C, 32.1 min. 100 % A 0 % C, 40.0 min. 100 % A 0 % C Messwellenlängen DAD: 260 ± 4nm; 290 ± 4nm; 370 ± 4nm; FLD: 0 min. Ex: 290 nm, Em: 395 nm, 15 min. Ex: 360 nm, Em: 520 nm) bestimmt.

Bestimmung Vitamin B12 in Getränken HPLC/Vis, MS: AOAC Official Method 2011.08 Vitamin B12 in Infant Formula and Adult Nutritions, (Giménez, 2014) Abweichung: LC/MS und VIS-Detektion (550 nm) statt UV-Detektion (360 nm) modifiziert. Die Analyten wurden aus der neutralisierten Probe mittels EASI-EXTRACT Vitamin B12-Immunaффinitätssäulen (R-Biopharm, Darmstadt, Deutschland) extrahiert, diverse Vitamin B12-Formen enzymatisch und durch Zugabe von Cyanidionen in Cyanocobalamin überführt und der Gehalt hochleistungsflüssigchromatographisch auf einer HPLC- Säule (Waters Atlantis T3 150 mm * 2,1 mm * 5 µm; Laufmittel A: 1 g Essigsäure/l Wasser; Laufmittel B: Methanol; Gradientenelution: 0.00 min. 80 %A 20 %B, 3.00 min. 80 %A 20 %B, 9.00 min. 50 %A 50 %B, 9.01 min. 10 %A 90 %B, 12.00 min. 10 %A 90 %B, 12.01 min. 80 %A 20 %B, 20.00 min. 80 %A 20 % B) mittels LC/MS (m/z: (positiv) TIC (678, 679)) oder VIS (550nm) (HPLC (Shimadzu; Kyoto, Japan); MS (AB Sciex; Canada) bestimmt.

Bestimmung von Pantothenensäure und Panthenol in Getränken mittels LC/MS: Es wurden 470 µl Wasser, 10 µl Ascorbinsäurelösung (10 g/l), 20 µl 32 %ige Salzsäure und 500 µl Probenlösung gemischt. Dann 950 µl 2-Propanol mit 50 µl Probenverdünnung gemischt und die trübe Lösung zentrifugiert (2 min. 13000 U/min.). Anschließend 100 µl Zentrifugat mit 900 µl Wasser gemischt und auf der HPLC (HPLC (Shimadzu; Kyoto, Japan); MS (AB Sciex; Framingham, USA) gemessen. Eluent A (1 g Essigsäure und 39 g Methanol/l Wasser); Eluent B (Methanol); Fluss: 0.3 ml/min Gradientenelution 0 min. 100 % A, 1.00 min. 100 % A, 5.00 min. 40 % A, 6.00min. 40 % A, 6.01 min. 100 % A, 11.00 min. 100 % A; HPLC-Säule Atlantis T3 150 mm * 2.1mm * 5 µm (Waters);

MS: Pantothenensäure: Target 220.2 --> 90.1; Pantothenensäure: Q1 220.2 --> 72.0; Pantothenensäure: Q2 220.2 --> 98.0, Panthenol: Target 206.2 --> 76.2, Panthenol: Q1 206.2 --> 102.2, Panthenol: Q2 206.2 --> 170.0; Die Berechnung der Konzentration des Analyten in der Probe erfolgte über die Peakflächen mittels externer Standardmethode.

Bestimmung von L-Ascorbinsäure und Isoascorbinsäure in Getränken und Nahrungsergänzungsmitteln, HPLC-DAD:

Die Messung ist an die ÖNORM EN 14130 (2003-09-01) Bestimmung von Vitamin C mittels HPLC angelehnt. Die Probe wurde mit Carrez-I-Lösung (15.0 g Kaliumhexacyanoferrat-(II)-Trihydrat/100 ml Wasser) und Carrez-II-Lösung (23.0 g Zinkacetat-Dihydrat, 3.2 ml Essigsäure /100 ml Wasser) geklärt und das Filtrat mit der Hochleistungsflüssigchromatograph mit Diodenarraydetektor (VWR/Hitachi, Tokio, Japan) auf der HPLC-Säule (Synergi 4 µ Hydro-RP 250 * 4.6 mm Phenomenex) isokratisch (Laufmittel: 2.00 g ortho-Phosphorsäure/l Wasser) mit der Messwellenlänge 242 ± 4nm gemessen.

Bestimmung des Stärkegehaltes in Lebensmitteln, polarimetrisch, EN ISO 10520:1998 modifiziert: Die Methode basiert auf einer doppelten polarimetrischen Bestimmung (Anton Paar; Österreich) und Berechnung des Stärkegehalts aus der Differenz beider Drehungswinkel. Im Hauptversuch wurde die Stärke in Salzsäure gelöst und nach Entfernung des Eiweißes durch Messen des Drehungswinkels ermittelt (Polarimeter). In einem Blindversuch wurde der lösliche und unlösliche Stärkeanteil, sowie des Eiweißes entfernt und der Drehungswinkel der übrigen optisch aktiven Stoffe ermittelt.

β-Carotin; HPLC mit UV-Detektion DIN EN 12823-2 modifiziert, Extraktion mit Petrolether nach alkalischer Verseifung der Proben: Die vereinigten, gewaschenen und getrockneten Extrakte wurden zur Trockene eingeengt und in Methanol gelöst. Die Chromatographie von β-Carotin wurde auf einer RP18-HPLC-Trennsäule (Gemini 5µ C18 100 x 4 mm; Laufmittel isokratisch Methanol) und die Detektion mittels UV-Detektor (UV; 453 nm) durchgeführt. Die Berechnung des β-Carotingehaltes der Probe erfolgte über eine 6-Punkt-Kalibrierung und unter Einrechnung von Einwaage und Endvolumen entsprechend der Aufarbeitungsschritte im Labor.

Vitamin D3/D2: HPLC mit PDA-Detektion; DIN EN 12821 Vitamin D; modifiziert, Extraktion mit Petrolether nach alkalischer Verseifung der Proben: Die vereinigten, gewaschenen und getrockneten Extrakte wurden zur Trockene eingeengt und in Hexan gelöst. Die fettlöslichen Vitamine sind empfindlich gegenüber UV-Strahlen und oxidierenden Stoffen. Es sind Braunglasgeräte zu verwenden bzw. ist direkte Sonneneinstrahlung zu verhindern. Verseifung und Extraktion sind unter

Stickstoffatmosphäre durchzuführen. Diese Lösung wurde mit einem semipräparativen Hochdruckflüssigchromatographen (Waters, Milford, USA; Säule: Spherisorb S5W 250 x 8 mm; Eluent (Hexan/2-Propanol 98/2; v/v; Detector 264 nm) und einem nachgeschalteten Fraktionskollektor aufgetrennt. Die gereinigte Lösung wurde zur Trockene eingedunstet und im Eluenten für die analytische Trennung aufgenommen. Auftrennung der Vitamine mit HPLC (Waters, Milford, USA) auf einer RP18-HPLC-Trennsäule (XBridge™ C18, 3,5 µm 250 x 4,6 mm; Eluent A (Wasser/Acetonitril; 90/10; v/v); Eluent B (Methanol/Acetonitril; 50/50; v/v)) und Detektion mittels PDA-Detektor (UV/264 nm). Die Berechnung der Vitamingehalte der Probe erfolgte über eine Kalibrierung und unter Einrechnung von Einwaage und Endvolumen entsprechend der Aufarbeitungsschritte im Labor.

Vitamin E: HPLC mit Fluoreszenzdetektion DIN EN 12822; modifiziert, Extraktion mit Petrolether nach alkalischer Verseifung der Proben: Die vereinigten, gewaschenen und getrockneten Extrakte wurden zur Trockene eingedunstet und in Methanol gelöst. Die Auftrennung der Vitamine

erfolgte mit der HPLC (Waters, Milford, USA) auf einer RP18-HPLC-Trennsäule (Gemini 5 µm C18 100 x 4 mm; Eluent A: Methanol; Eluent B: Wasser; 0min 90 %A; 2min 100 %A; 7min 100 %A; 7,5min 90 %A) und der Detektion mit dem Fluoreszenzdetektor (FLD; Anregung 270 nm; Emission 330 nm). Die Berechnung der Vitamingehalte der Probe erfolgte über eine Kalibrierung und unter Einrechnung von Einwaage und Endvolumen entsprechend der Aufarbeitungsschritte im Labor.

Bestimmung von Elementen in Lebensmitteln mittels ICP-MS, EN ISO 17294-2; modifiziert: Nach dem Mikrowellendruckaufschluss (MLS Turbowave; Deutschland) und entsprechender Verdünnung wurde die Lösung zerstäubt und mittels "Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry" (ICP-MS) (Agilent, USA) in einem induktiv gekoppelten Argonplasma atomisiert und ionisiert. Die Ionen wurden aus dem Plasma über ein System von Lochblenden extrahiert, in einem Massenspektrometer nach ihrem Verhältnis Masse zu Ladung getrennt und mit Hilfe eines Detektors bestimmt. Als Vergleich dienen Kalibrierlösungen mit bekannten Gehalten.

Tab. 3: Verteilung der Testpersonen bei Akzeptanztest

		%
Geschlecht	weiblich	40,5
	männlich	59,5
Alter	bis 20 Jahre	57,4
	21 bis 40 Jahre	11
	41 bis 60 Jahre	22,6
	über 60 Jahre	9
Fruchtsaftkonsum	täglich	21
	mehrmals pro Woche	46,8
	mehrmals pro Monat	17,4
	seltener	14,8

Verkostung

Die fünf Varianten (1: +10 %, 2: Original, 3: +20 %, 4: +40 %, 5: +30 %) wurden im Rahmen des Tags der Offenen Tür der HBLA und BA für Wein- und Obstbau Klosterneuburg am 21. 11. 2019 von Besuchern einzeln in Wein-Tulpengläsern gedeckt verkostet. 189 Urteile wurden abgegeben. Die

Akzeptanz der codierten Proben bei den Verkostern wurde mittels Fragebogen mit einer Skala von 1 ("Mag ich nicht") bis 10 ("Mag ich gerne") ermittelt. Weiters wurde gefragt, welches der Produkte (Mehrfachnennungen möglich) von den Kostern gekauft werden würde. Zusätzlich wurden das Geschlecht, das Alter und der Fruchtsaftkonsum jeder Person mittels Fragebogen abgefragt (Tab. 3).

Statistische Auswertung

Von den chemischen Daten wurden jeweils der Mittelwert und die Standardabweichung berechnet. Die Daten des Akzeptanztests wurden mittels Häufigkeitsverteilung, Varianzanalyse und Tukey-Test ($\alpha = 0,05$) ausgewertet. Korrelationen wurden nach Pearson (zweiseitig) bestimmt. Die Auswertungen erfolgten mittels SPSS 26 und Microsoft Excel.

Ergebnisse

Analysen

Die ermittelten Werte der beiden Kürbissäfte aus diesem Versuch liegen in den meisten Fällen unter denen in der Literatur (Tab. 1). Dies zeigt sich vor allem bei den Kohlenhydratgehalten (nur ca. 30 bis 40 % gegenüber anderen Kürbisarten und daraus resultierend beim geringeren Kaloriengehalt (8 bis 10 kcal/100 ml). Bei einzelnen den Autoren bekannten Verarbeitungsversuchen durch Produzenten (z. B. Alkoholherstellung) wurde bereits beobachtet, dass die Ausbeuten besonders niedrig ausfielen. Es wurde daher schon vermutet, dass die Konzentrationen wertgebender Inhaltsstoffe bei diesen Kürbissen geringer sind als bei anderen Kürbisarten (untere Grenze der weiten Range von Kürbissen). Zur Herstellung kalorienreduzierter Säfte eignet sich der 'Gleisdorfer Kürbis' daher besonders gut.

Die Gehalte an organischen Säuren liegen auch auf einem sehr niedrigen Niveau, aber dennoch etwas höher als die in der Literatur angegebenen Werte (Tab. 1). Die Gehalte an Vitaminen sind eher geringer als in der Literatur beschrieben. Nur der Gehalt an Nicotinsäureamid (Vit B3) liegt mit ca. 20 mg/l deutlich höher als aus der Literatur bekannt. Der Kürbis ist generell als gute Vit B3-Quelle bekannt (Hui et al., 2016). Die Verarbeitung der Kürbisse (inkl. Erhitzung und warmer

Pressung) bei diesem Versuch könnte einen Einfluss auf einige Vitamingehalte gehabt haben (z. B. Riboflavin, Folsäure, L-Ascorbinsäure). Nicotinsäureamid (Niacin) hingegen ist sehr stabil gegenüber Hitze, Licht und Sauerstoff (Elmadfa und Leitzmann, 2004). Es konnten nicht für alle analysierten Vitamine Referenzwerte in der Literatur gefunden werden. Diese Arbeit zeigt somit erstmals die Gehalte einiger wichtiger Inhaltsstoffe auf.

Der Gehalt an β -Carotin (10 bis 30 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) ist ebenfalls wesentlich geringer als die Referenzwerte in der Literatur (bis 3000 $\mu\text{g}/100\text{ g}$), wo jedoch auch große Unterschiede bei Kürbissen festgestellt werden (Tab. 1).

Die Mineralstoffgehalte der untersuchten Kürbissäfte liegen unter den Referenzwerten aus der Literatur (Tab. 1). Dabei fällt der geringe Gehalt an Phosphor (ca. 100 mg/l) besonders auf. Der Eisengehalt der beiden untersuchten Säfte (2,6 vs. 16,3 mg/l) unterscheidet sich sehr stark. Es wird vermutet, dass dies durch den Einsatz einer heute für die Kürbiskernernte üblichen Erntemaschine bedingt ist.

Verkostung

Die Verkostungsergebnisse zeigen, dass die Originalprobe (100 % Apfelsaft) als auch die Variante mit Zusatz von 10 % Kürbissaft signifikant besser beurteilt wurden als die übrigen Mischsäfte (Tab. 4). Die Variante mit +40 % Kürbissaft wurde signifikant am schlechtesten bewertet. Auch die Häufigkeit der gewählten Punkte bei der Bewertung der fünf Proben zeigt eine deutlich schiefe Verteilung nach links (höhere Akzeptanz) bei den Varianten 1 (+10 % Kürbissaft) und 2 (original Apfelsaft) (Abb. 1) sowie schwächer ausgeprägt bei Variante 5 (+30 % Kürbissaft). Variante 4 (+40 % Kürbissaft) zeigt eine deutliche Schiefe nach rechts (geringere Akzeptanz) (Abb. 2). Nur bei Variante 3 (+20 % Kürbissaft) ist die Verteilung relativ gleichmäßig.

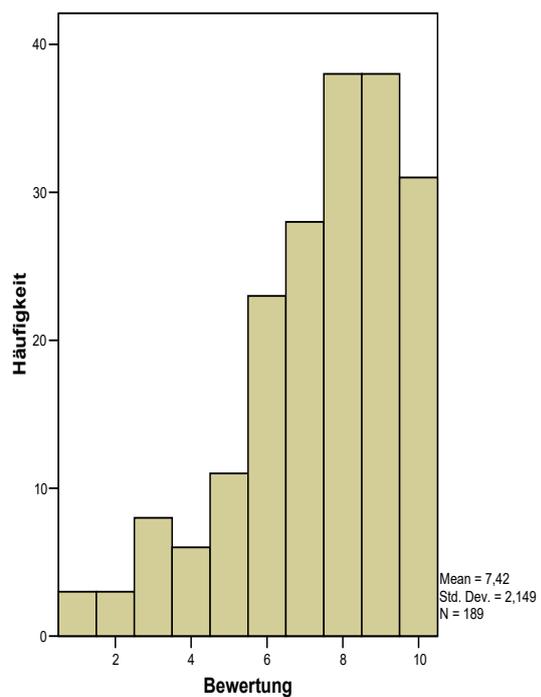


Abb 1: Häufigkeitsverteilung der Bewertung des Apfelsaftes (+0% Kürbis)

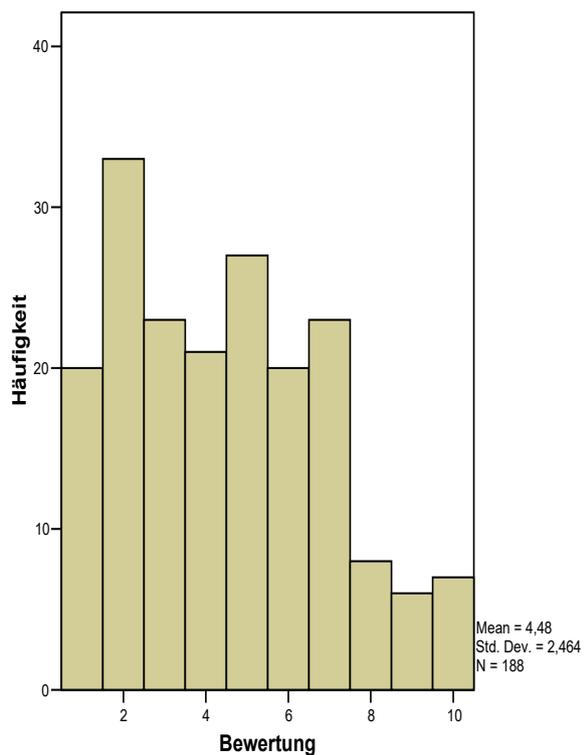


Abb 2: Häufigkeitsverteilung der Bewertung des Apfel-Kürbismischsaftes (+40% Kürbis)

Hinsichtlich des Geschlechts gibt es nur bei dem Saft ohne Kürbissaft-Zugabe (Original Apfelsaft) einen signifikanten Effekt auf die sensorische Bewertung, wobei diese Probe von den weiblichen Kostpersonen besser beurteilt wurde (Mittelwert: 7,8 vs. 7,1) als von den männlichen (Einzelresultate nicht dargestellt). Signifikant unterschiedliche Akzeptanz bedingt durch das Alter konnte nur bei den Säften mit 30 % bzw. 40 % Kürbissaft-Zusatz festgestellt werden. Diese beiden Mischsäfte wurden jeweils von der Altersgruppe "älter als 60 Jahre" als besser beurteilt (Einzelresultate nicht dargestellt). Die Autoren weisen aber auf die geringe Anzahl an Kostpersonen in dieser Altersklasse hin (Tab. 3). Kein signifikanter Zusammenhang konnte zwischen der Akzeptanz der Proben und dem Fruchtsaftkonsum beobachtet werden.

Generell zeigen die Ergebnisse, dass die Akzeptanz der Säfte bei den Kostern mit zunehmendem Anteil an Kürbissaft abnimmt. Dies liegt vermutlich daran, dass der typische Kürbisgeruch und -geschmack schon bei geringen Mischanteilen deutlich erkennbar sind und scheinbar bei den Konsumenten nicht dem Erwartungsbild von "Saft" entsprechen. Der hohe Säuregehalt des Apfelsaftes trug vermutlich aber wesentlich zu dem doch generell hohen Akzeptanzniveau der meisten Säfte bei. Bei Vorversuchen (Ergebnisse hier nicht dargestellt) konnte beobachtet werden, dass bei Apfelsäften mit geringerem Säuregehalt der typische Kürbisgeruch und -geschmack stärker merkbar sind.

Bis zu 30 % Kürbisanteil wird von vielen Kostpersonen noch akzeptiert. Über 20 % der Personen würden dieses Produkt auch kaufen. Nur bei 40 %

Kürbissaftanteil fällt der Wert auf ca. 6 % der Konsumenten ab (Tab. 4).

Die Ergebnisse zeigen, dass sich das "By-product" Kürbissaft aus der Produktion des "Steirischen Kürbiskernöls ggA" zur Herstellung eines Mischsaftes (Apfel-Kürbissaft) mit verringertem Energiegehalt eignet. Der höhere Gehalt an Nicotinsäureamid, ein wichtiges Vitamin für den menschlichen Stoffwechsel ("Energie-Vitamin"), kann auch ernährungsphysiologisch bedeutsam sein, da Apfelsaft nur geringe Gehalte dieses Vitamins aufweist (Tab. 1). Die sensorische Beurteilung der Mischsäfte ergab, dass

Konsumenten einen kleinen Kürbisanteil (10 %) im Apfelsaft sehr gut akzeptieren, aber auch noch zu einem großen Teil (20 %) Mischsäfte bis zu 30 % Kürbisanteil kaufen würden. Die Ergebnisse deuten auch auf eine größere Akzeptanz des Kürbissaftes bei älteren Konsumenten hin. Hinsichtlich Kalorienreduktion eignet sich der in diesem Versuch verwendete Kürbissaft sehr gut. Mit nur 20 % Energiegehalt gegenüber Apfelsaft ist er ein geeigneter Mischungspartner, um den Energiegehalt von z. B. Apfelsäften signifikant zu senken. Auch hinsichtlich Kennzeichnung hat der Kürbissaft Vorteile gegenüber anderen heute untersuchten und verwendeten Technologien zur Reduktion der Kalorien in Fruchtsaft, da hier 100 % Fruchtanteil und gleichzeitig keine signifikante Reduktion wertgebender Inhaltsstoffe eine Auslobung als Saft auch heute schon erlauben.

Die Autoren bedanken sich bei Biobauern Wolfgang Gössinger aus Pillichsdorf für die Zusammenarbeit und Bereitstellung der Kürbisse.

Tab. 4: Mittelwerte und Standardabweichung der Bewertung der Säfte sowie Häufigkeitsangabe bei jedem Saft, ob der Saft gekauft werden würde; gleiche Buchstaben geben gleiche Untergruppen bei Tukey-Test an.

Probe	Bewertung	Häufigkeit
Original	7.4 ± 2.2 c	104
+ 10 %	7 ± 2.4 c	86
+ 20 %	5.7 ± 2.7 b	44
+ 30 %	6 ± 2.7 b	40
+ 40 %	4.5 ± 2.5 a	12

Literatur

Aziz, M.G., Michlmayr, H., Kulbe, K. D., Del Hiero, A. M. 2011: Biotransformation of pineapple juice sugars into dietetic derivatives by using a cell free oxidoreductase from *Zymomonas mobilis* together with commercial invertase. *Enzyme Microbtech* 48: 85-91

DIN 10758:1997-05: Untersuchung von Honig - Bestimmung des Gehaltes an den Sacchariden Fructose, Glucose, Saccharose, Turanose und Maltose HPLC-Verfahren, <https://www.beuth.de/de/norm/din-10758/2949226> (1.6.2021)

DIN EN 12821:2009-08, Lebensmittel - Bestimmung von Vitamin D mit Hochleistungs-Flüssigchromatographie - Bestimmung von Cholecalciferol (D₃) oder Ergocalciferol (D₂); Deutsche Fassung EN 12821:2009, <https://www.beuth.de/de/norm/din-en-12821/112598985> (1.6.2021)

DIN EN 12822:2014-08, Lebensmittel - Bestimmung von Vitamin E mit Hochleistungs-Flüssigchromatographie - Bestimmung von α -, β -, γ - und δ -Tocopherol; Deutsche Fassung EN 12822:2014, <https://www.beuth.de/de/norm/din-en-12822/196811043> (1.6.2021)

DIN EN 12823-2:2000-07, Lebensmittel - Bestimmung von Vitamin A mit Hochleistungs-Flüssigchromatographie - Teil 2: Bestimmung von β -Carotin; Deutsche Fassung EN 12823-2:2000, <https://www.beuth.de/de/norm/din-en-12823-2/31427435> (1.6.2021)

DIN EN 14130:2003-09 Lebensmittel - Bestimmung von Vitamin C mit HPLC; Deutsche Fassung EN 14130:2003, <https://www.beuth.de/de/norm/din-en-14130/60837087> (1.6.2021)

DIN EN ISO 10520:1998-12; Native Stärke - Bestimmung des Stärkegehalts - Polarimetrisches Verfahren nach Ewers (ISO 10520:1997); Deutsche Fassung EN ISO 10520:1998, <https://www.beuth.de/de/norm/din-en-iso-10520/9354371> (1.6.2021)

DIN EN ISO 17294-2:2017-01, Wasserbeschaffenheit - Anwendung der induktiv gekoppelten Plasma-Massenspektrometrie (ICP-MS) - Teil 2: Bestimmung von ausgewählten Elementen einschließlich Uran-Isotope (ISO 17294-2:2016); Deutsche Fassung EN ISO 17294-2:2016, <https://www.beuth.de/de/norm/din-en-iso-17294-2/241366324> (1.6.2021)

Elmadfa, I. 2012: Österreichischer Ernährungsbericht. 1. Aufl. - Wien: Universität Wien, Bundesministerium für Gesundheit, 2012

Elmadfa, I. und Leitzmann, C. 2004. Ernährung des Menschen. 4. Aufl. - Stuttgart: Ulmer, 2004

Fruchtsaftverordnung, 2004: Verordnung der Bundesministerin für Gesundheit und Frauen über Fruchtsäfte und einige gleichartige Erzeugnisse (Fruchtsaftverordnung) StF: BGBl. II Nr. 83/2004

Giménez, C. 2014: AOAC Official Method 2011.08 Vitamin B12, *Journal of AOAC International* 97 (5): 1397

Hui, Y.H., Evranuz, E.Ö., Bingöl, G., Erten, H., Jaramillo-Flores, M.E. 2016: Handbook of Vegetable Preservation and Processing. Boca Raton CRC Press, 2016, Second edition.

Hui, Y.H., Ghazala, S., Graham, D.M., Murrell, K.D., Nip, W-K. 2004: Handbook of Vegetable Preservation and Processing. Inc, New York: Marcel Decker, 2004

Methodensammlung BVL. 2021:

kostenpflichtiger Onlinedienst der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB. Trockenmasse (L31.00—18), Asche (L31.00—4), Stickstoffbestimmung (L01.00—60) und Gesamtfettgehalt (L01.00—20) deutschen amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §35 LMBG, <https://www.methodensammlung-bvl.de/de> (1.6.2021)

Patent AT 16554 U1 2019-12-15: Verfahren zur Herstellung eines zuckerreduzierten Fruchtsafts – insbesondere Apfelsafts. Österreichisches Patentamt, 2019

Pro Hektar. 2021: Das neue Magazin der BauernZeitung 2: 9

Schwabl, T., Graf, M., Jäger, H., Schober, V., Gössinger, M. 2020: Entwicklung und sensorische Charakterisierung eines energiereduzierten Getränkes auf Apfelsaftbasis. Mitteilungen Klosterneuburg 70: 102 – 114.

Sinha, N.K., Hui, Y.H., Evranuz, E.Ö., Siddiq, M., Ahmed, J. 2011: Handbook of Vegetables & Vegetable Processing. Iowa: Wiley-Blackwell, 2011

Souci, S.W., Fachmann, W., Kraut, H. 2008. Die Zusammensetzung der Lebensmittel Nährwert-Tabellen. Boca Taton: CRC Press Book, 2008, 7. Aufl.

VDLUFA – (Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten e.V.) Methodenbuch III, Wasserlösliche Vitamine MB 3-13.9.1. https://www.vdlufa.de/Methodenbuch/index.php?option=com_content&view=article&id=4&Itemid=111&lang=de (1.6.2021)

WHO, 2015a: Guideline: Sugars intake for adults and children. Guideline: sugars intake for adults and children (who.int) (13.5.2021)

WHO, 2015b: WHO Regional Office for Europe nutrient profile model. WHO/Europe | Nutrition - WHO Regional Office for Europe nutrient profile model (2015) (13.5.2021)

www.steirisches-kürbiskernöl.eu (13.5.2021)

Yarom, G. und Blachinsky, E. 2021: Better Juice – making juice healthy again. IFU technical workshop, online, 27.5.2021

Eingelangt am 4. August 2021

Origin of Slovenian wild grown grapevines and their genetic relationships

Metka Šiško, Stanislav Vršič, Anton Ivančič, Borut Pulko, Andrej Perko and Andrej Šušek

University of Maribor, Faculty of Agriculture and Life Sciences

SI- 2311 Hoče, Pivola 10

E-Mail: metka.sisko@um.si

The spread of phylloxera at the end of the 19th century caused a significant genetic erosion and reduction of Slovenian areas under grapevine. One of the consequences was the introduction of resistant rootstocks from North America. Twelve SSRs markers well distributed through the *Vitis* genome were screened on 70 grapevine genotypes with focus on Slovenian grapevines growing in the wild, which could hypothetically include descendants of the North American germplasm introduced more than a century ago, along with Slovenian wild indigenous genotypes. The results suggest that the Slovenian wild genotypes can be grouped into five clusters: (1) species or hybrids involving *Vitis labrusca* L., *Vitis riparia* Michx., *Vitis rupestris* Scheele and *Vitis longii* W.R. Prince & Prince; (2) *Vitis vinifera* subsp. *vinifera* L. germplasm and its hybrids with the North American germplasm; (3) *V. vinifera* subsp. *sylvestris* (C.C. Gmel.) Hegi and descendants of its natural crosses; (4) descendants of crosses involving *Vitis berlandieri* Planch. and (5) North American germplasm and its hybrid descendants collected in the Southwest of the country. Allelic diversity of the genetically 'pure' *V. vinifera* subsp. *sylvestris* has been partly preserved through natural intercrosses with cultivated *V. vinifera* or with the much more vigorous and resistant American genotypes. For the survival of the North American germplasm, vegetative propagation has been crucial; however, such high levels of genetic variation cannot be explained without the presence of natural hybridization involving genetically very diverse genotypes. Most Slovenian wild grapevines are well adapted to the local environmental conditions, and some can be considered as potential rootstock material or as a source of allelic diversity for genetic breeding.

Keywords: grapevine, rootstocks, microsatellites, SSR, *Vitis* spp., genetic diversity

Die Herkunft slowenischer wildwachsender Weinreben und deren genetisches Verhältnis. Die Ausbreitung der Reblaus Ende des 19. Jahrhunderts verursachte eine signifikante genetische Erosion bei Weinreben und eine Verringerung der Weinanbauflächen. Eine der Folgen war die Einführung resistenter Wurzelstöcke aus Nordamerika. Zwölf SSRs-Marker, die gut über das *Vitis*-Genom verteilt sind, wurden an 70 Rebgenotypen untersucht mit dem Fokus auf slowenische wildwachsende Weinreben, die rein hypothetisch gesehen Nachkommen des vor mehr als einem Jahrhundert eingeführten nordamerikanischen Keimplasmas beinhalten könnten, sowie auf slowenische wildwachsende indigenen Genotypen. Die Ergebnisse legen nahe, dass sie in fünf Cluster eingeteilt werden können: (1) Arten oder Hybriden, die *Vitis labrusca* L., *Vitis riparia* Michx., *Vitis rupestris* Scheele und *Vitis longii* W.R. Prince & Prince einbeziehen, (2) *Vitis vinifera* subsp. *vinifera* L. Keimplasma und seine Hybriden mit dem nordamerikanischen Keimplasma, (3) *V. vinifera* subsp. *sylvestris* (C.C. Gmel.) Hegi und Nachkommen seiner natürlichen Kreuzungen, (4) Nachkommen von Kreuzungen, die *Vitis berlandieri* Planch. einbeziehen und (5) nordamerikanisches Keimplasma und seine hybriden Nachkommen, die im Südwesten des Landes gesammelt wurden. Die allelische Vielfalt der genetisch "reinen" *V. vinifera* subsp. *sylvestris* wurde teilweise durch natürliche Kreuzungen mit kultivierten *V. vinifera* oder mit viel kräftigeren und resistenteren amerikanischen Genotypen erhalten. Für das Überleben des nordamerikanischen Keimplasmas war die vegetative Vermehrung von entscheidender Bedeutung. Allerdings konnte ein derart hohes Maß an genetischer Variation nicht ohne das Vorhandensein einer natürlichen Hybridisierung mit genetisch sehr unterschiedlichen Genotypen erklärt werden. Die meisten wildwachsenden slowenischen Weinreben sind gut an die örtlichen Umweltbedingungen angepasst, und einige von ihnen können als geeignetes potenzielles Unterlagenmaterial oder als Quelle allelischer Vielfalt für die genetische Züchtung angesehen werden.

Schlagwörter: Weinrebe, Unterlagen, Mikrosatelliten, SSR, *Vitis* spp., genetische Vielfalt

The common grapevine (*Vitis vinifera* L.) is one of the oldest cultivated fruit species and is subdivided into two subspecies: subsp. *vinifera* L. (the cultivated subspecies), and subsp. *sylvestris* (C.C. Gmel.) Hegi, which is thought to be the wild progenitor of the cultivated grapevines (Levadoux, 1956; Zohary and Hopf, 2000) and used to be abundant from the western Himalayas to the European Atlantic coast (Lacombe et al., 2003; Bacilieri et al., 2013); however, the appearance of downy mildew (*Plasmopara viticola* (Berk. et Curtis ex de Bary) Berl. et de Toni), powdery mildew (*Erysiphe necator* Schwein.) and phylloxera (*Daktulosphaira vitifoliae* Fitch) significantly reduced natural populations of *V. vinifera* subsp. *sylvestris* and caused genetic erosion. At present, this wild relative of the common grapevine is restricted to small, isolated populations along riverbank forests (Arnold, 1998; Zohary and Hopf, 2000; Schneider et al., 2015). During the last century, pests and diseases, together with various economic factors, led to a significant decrease in the number of cultivated grapevine varieties. Among these factors, the spread of phylloxera at the end of the 19th century was probably the most important. The areas under grapevine were almost halved. Since chemical eradication of this pest was unsuccessful, it was decided to introduce resistant grapevine rootstocks from North America (Granett et al., 2001; This et al., 2006), a measure which was also important for managing drought stress (Pavlousek, 2011; Zhang et al., 2016; Fort et al., 2017).

In Slovenia, *Vitis* spp. plants can be found growing wild in many forests, especially forest edges, and abandoned vineyards. They may originate from various sources such as subsp. *sylvestris*, various rootstock material and numerous natural hybrids. Slovenian vineyards are characterized by the presence of both indigenous (autochthonous) and introduced (allochthonous) varieties (Štajner et al., 2011; Maul et al., 2015). The first introductions of *V. vinifera* germplasm took place before the appearance of phylloxera. The first North American materials were introduced to Northeast Slovenia at the end of the 19th century (Skalicky, 1907a, b) and belonged to *Vitis acerifolia* Raf. (syn. *V. solonis* hort. Berol. ex Planch.) and *Vitis riparia* Michx. At approximately the same time, the Austro-Hungarian agricultural authorities began to introduce grapevines belonging to *Vitis labrusca* L. Many growers expected that some of the *V. labrusca*

genotypes would gradually replace traditional *V. vinifera* germplasm. Later introductions involved interspecific hybrids (*Vitis berlandieri* Planch. × *V. riparia*) and other species such as *Vitis rupestris* Scheele and *V. riparia*. The interspecific hybrid *V. berlandieri* × *V. riparia* was already present in 1906 (Skalicky, 1907a, b). Owing to vegetative propagation, some of these early introduced materials most probably survived in the wild and have been occasionally used as rootstock.

V. vinifera has been present since prehistoric times across most European regions with a temperate climate. It has always been an important member of the existing plant communities. The discovery of America and the introduction of new plant species was associated with the transfer of pests and diseases. For *V. vinifera*, especially *V. vinifera* subsp. *sylvestris*, the consequences were drastic. Since the existing genotypes of this indigenous taxon were highly susceptible to new pests and diseases, their presence in plant communities began to decrease, and in many cases, they gradually died out. The cultivated taxon (i.e., *V. vinifera* subsp. *vinifera*) was in a better position because there were numerous cultivars and it was possible to select at least partly tolerant ones, or to use pesticides. Regarding phylloxera, the only reasonable solution was grafting on a resistant rootstock imported from North America. For general agricultural practice, this was a good solution, but it was a disaster for the indigenous wild *V. vinifera* subsp. *sylvestris*. Due to resistance to pests and diseases, many of the introduced North American *Vitis* species and their interspecific hybrids became invasive in the new environment and gradually changed the original structure of plant communities where *V. vinifera* subsp. *sylvestris* used to be a stable member. More than a century after the introduction of the American germplasm, there were significant changes in plant communities involving *Vitis* species. Natural interspecific crossings between feral North American *Vitis* species and the native grapevine *V. vinifera* have been documented, and these have led to the emergence of a genetic complex of wild forms, rootstocks, naturalized domesticated forms and hybrids derived from spontaneous hybridizations and introgressions among these taxa (Bodor et al., 2010; Ocete et al., 2011; Cunha et al., 2020; D'Onofrio, 2020; Arnold and Schnitzler, 2020). This process has contributed to the eradication

of the endemic wild grapevine *V. vinifera* subsp. *sylvestris*, already endangered by American pests and pathogens and large-scale habitat destruction. Recent studies have shown that wild grapevines survived as small populations in remote mountain sites, screes, floodplain forests of large rivers, their deltas, and their tributaries (Arnold et al., 2010; Regner et al., 2004; Tiefenbruner et al., 2015; Arnold et al., 2017).

The present study involves a molecular analysis of grapevine genotypes growing in the wild across Slovenia (hypothetically wild relatives of cultivated *V. vinifera*, various feral genotypes and their hybrids), locally grown grapevines and reference genotypes of cultivated and wild *V. vinifera*. Microsatellite markers (SSRs) have been found to be very useful for grapevine varietal identification and genetic characterization (Vršič et al., 2011; Maul et al., 2015). Our study had two main purposes: (1) to document the presence/absence of the indigenous *V. vinifera* subsp. *sylvestris* and (2) to find out what happened to early North American grapevine materials, especially in association with their genetic and taxonomic background. Because the Slovenian climate is highly favorable for many grapevine pests and diseases, we assumed that it would be very difficult, or impossible, to find a genuine *V. vinifera* subsp. *sylvestris*. We also wanted to elucidate some of the problems associated with the evolution of the North American germplasm that escaped from cultivated areas. We assumed that both vegetative and seed propagation took place. Given the differences in sexual expression of plants, hybridization was probably frequent and also involved the indigenous wild taxon of *V. vinifera*. The emphasis was placed on molecular analyses of plants growing in the wild. According to our hypothesis, some of the introduced materials were lost, some were preserved by vegetative multiplication and remained genetically more or less unchanged, while the rest were subjected to genetic recombination, involving self- and cross-fertilization (i.e., intra- and interspecific hybridization). We assumed that genetic recombination probably played a significant role, resulting in high genetic and morphological variation.

Materials and methods

Plant material

A total of 70 grapevine genotypes were included in the study (Table 1): (1) 13 cultivated genotypes involving 6 reference varieties ('Merlot', 'Pinot Noir', 'Cabernet Sauvignon', 'Sultanine', 'Touriga Nacional', 'Barbera') and 7 rootstock genotypes; (2) 3 accessions of *V. vinifera* subsp. *sylvestris*, two of which were obtained from the Botanical Garden of the University of Vienna and one from the Botanical Garden of the University of Graz (Austria); (3) 54 samples of wild-growing and feral genotypes collected randomly across Slovenia from abandoned vineyards and nearby areas such as forests or forest edges and river banks. For the ampelographic characterisation of young shoots and leaves, some descriptors from the list of descriptors developed by the International Organization of Vine and Wine (OIV, 2009) were used.

DNA isolation and microsatellite analysis

DNA was extracted from fresh, young leaves using the CTAB method (Doyle and Doyle, 1987), with some modifications as described by Šiško et al. (2009). Two separate extractions per plant were performed.

Twelve microsatellite loci were used. Eight SSR-markers (VVS 2, VVMD 5, VVMD 7, VVMD 25, VVMD 27, VVMD 28, VrZAG 62, VrZAG 79) recommended by the European project GrapeGen06 were applied (Maul et al., 2012). Additionally, we used four markers: VVMD 6 (Bowers et al., 1996), VVMD24, VVMD 36 (Bowers et al., 1999), VrZAG 112 (Sefc et al., 1999). Fifteen μ l of PCR mixture contained 20 ng DNA, 0.45 U Taq DNA polymerase (Fermentas, Waltham, Massachusetts, USA), 1x reaction buffer (Fermentas, Waltham, Massachusetts, USA), 4 mM $MgCl_2$ (Fermentas, Waltham, Massachusetts, USA), 0.5 μ M of each primer (Sigma, Darmstadt, Germany) and 0.2 mM of each dNTP's (Sigma, Darmstadt, Germany). The polymerase chain reaction (PCR) was performed using a Whatman Biometra T-Gradient thermocycler (Göttingen, Germany). Capillary electrophoresis of PCR products was performed on a Beckman Coulter CEQ8000 (Brea, California, USA) according to manufacturer's instructions. Fragment size

analysis was done with the built-in software. A fluorescently labelled size marker (Beckman Coulter DNA Size Standard Kit 400 bp (Brea, California, USA) was used as a molecular weight reference.

Table1: Plant materials used in the investigation

Label/Name	Typ ¹	Origin ²	Location	Label/Name	Typ ¹	Origin ²	Location
220 <i>V. riparia</i>	R	SPGB	46°32'16.6"N 15°33'24.2"E	191 Nunska graba 1	W	ab. vineyard	46°29'22.4"N 16°14'08.5"E
207 'Boerner'	R	SPGB	46°32'16.6"N 15°33'24.2"E	192 Nunska graba 2	W	ab. vineyard	46°29'25.1"N 16°14'08.4"E
215 <i>V. rupestris</i>	R	SPGB	46°32'16.6"N 15°33'24.2"E	194 Nunska graba 3	W	ab. vineyard	46°29'28.5"N 16°14'09.9"E
217 'M IV'	R	SPGB	46°32'16.6"N 15°33'24.2"E	193 Ivanjkovci	W	river bank	46°27'38.6"N 16°09'28.8"E
218 'SO4'	R	SPGB	46°32'16.6"N 15°33'24.2"E	197 Lahonci 1	F	forest edge	46°28'49.3"N 16°07'33.9"E
R1 'Merlot'	cv.	UL BF	46°02'58.2"N 14°28'28.4"E	195 Lahonci 2	F	forest edge	46°28'48.4"N 16°07'50.5"E
R2 'Pinot noir'	cv.	UL BF	46°02'58.2"N 14°28'28.4"E	196 Lahonci 3	F	forest edge	46°28'28.5"N 16°08'01.2"E
R3 'Cabernet sauvignon'	cv.	UL BF	46°02'58.2"N 14°28'28.4"E	198 Trnovci 1	W	forest edge	46°30'04.9"N 16°02'17.2"E
R4 'Sultanine'	cv.	UL BF	46°02'58.2"N 14°28'28.4"E	199 Trnovci 2	F	forest edge	46°29'59.7"N 16°02'22.0"E
R5 'Touriga nacional'	cv.	UL BF	46°02'58.2"N 14°28'28.4"E	201 Trnovci 3	F	forest edge	46°29'54.0"N 16°02'31.8"E
R6 'Barbera'	cv.	UL BF	46°02'58.2"N 14°28'28.4"E	200 Vitomarci	W	ab. vineyard	46°30'53.8"N 15°56'27.2"E
R7 <i>V. rupestris</i>	R	UL BF	46°02'58.2"N 14°28'28.4"E	202 Sencak	F	forest edge	46°30'32.6"N 16°00'33.3"E
249 <i>V. v. subsp. sylvestris</i> sp.	BG	Wien	48°11'31.9"N 16°23'00.6"E	295 Hrastje	W	forest edge	46.618226°N 16.086525°E
246 <i>V. v. subsp. sylvestris</i> sp.	BG	Wien	48°11'31.9"N 16°23'00.6"E	271 Vinje 1	W	forest	46°09'15.8"N 14°43'40.9"E
250 <i>V. v. subsp. sylvestris</i> sp.	BG	Graz	47°04'54.5"N 15°27'25.6"E	272 Vinje 2	W	forest	46°09'14.0"N 14°43'01.1"E
180 <i>V. riparia</i> Graz	R	BG Graz	47°04'54.5"N 15°27'25.6"E	292 Kostel	W	river bank	45°30'34.7"N 14°54'48.2"E
175 Kalvaria 1	W	ab. vineyard	46°34'08.9"N 15°38'20.5"E	274 Puce	W	ab. vineyard	45°29'11.6"N 13°43'56.1"E
171 Kalvaria 2	W	ab. vineyard	46°34'11.3"N 15°38'15.7"E	275 Bric 1	W	forest	45°27'59.4"N 13°44'09.1"E
172 Kalvaria 3	W	ab. vineyard	46°34'21.7"N 15°37'58.6"E	287 Bric 2	W	forest	45°27'50.9"N 13°44'05.7"E
179 Kalvaria 4	W	ab. vineyard	46°34'20.9"N 15°37'50.6"E	288 Bric 3	W	forest	45°27'53.1"N 13°44'10.4"E
173 Kalvaria 5	W	ab. vineyard	46°34'11.8"N 15°38'14.0"E	289 Bric 4	W	forest	45°27'55.6"N 13°44'14.9"E
236 Vurberk 1	W	forest edge	46°29'06.8"N 15°47'43.8"E	290 Bric 5	W	forest	45°28'00.3"N 13°44'21.9"E
237 Vurberk 2	W	forest edge	46°29'14.6"N 15°47'32.4"E	291 Bric 6	W	forest	45°28'03.9"N 13°44'30.9"E
238 Korena	W	forest edge	46°31'10.2"N 15°47'03.3"E	273 Nova vas	W	forest	45°29'00.6"N 13°42'20.9"E
239 Vodole	F	forest edge	46°33'50.9"N 15°41'22.8"E	276 Dragonja river	W	ab. vineyard	45°28'10.7"N 13°45'31.0"E
240 Malečnik 1	W	ab. vineyard	46°33'05.2"N 15°42'04.0"E	277 Dragonja 1	W	forest edge	45°27'32.9"N 13°42'47.7"E
241 Malečnik 2	F	forest edge	46°33'22.9"N 15°42'07.1"E	278 Dragonja 2	W	forest edge	45°27'30.4"N 13°42'44.6"E
242 Zavrh	W	forest edge	46°32'12.1"N 15°50'02.2"E	279 Dragonja 3	W	forest edge	45°27'29.8"N 13°42'23.9"E
245 Selce	W	forest edge	46°30'53.6"N 15°49'31.6"E	280 Dragonja 4	W	forest edge	45°27'26.4"N 13°42'12.3"E
244 Rospoh	W	forest edge	46°35'53.2"N 15°37'50.2"E	281 Dragonja 5	W	forest edge	45°27'23.9"N 13°42'06.7"E
243 Ciglence	W	forest edge	46°30'35.2"N 15°46'53.1"E	282 Secovlje 1	W	ab. vineyard	45°28'12.2"N 13°37'14.3"E
186 Moravci	W	ab. vineyard	46°30'47.9"N 16°01'01.8"E	283 Secovlje 2	W	ab. vineyard	45°28'14.4"N 13°37'14.2"E
187 Kamenscak	W	forest edge	46°30'51.2"N 16°08'01.2"E	284 Secovlje 3	W	ab. vineyard	45°28'20.4"N 13°37'12.0"E
188 Vidanovci	W	forest edge	46°30'44.6"N 16°07'41.4"E	285 Secovlje 4	W	ab. vineyard	45°28'21.2"N 13°37'11.3"E
189 Runcetov breg	W	ab. vineyard	46°30'14.9"N 16°13'14.7"E	286 Sv. Peter	W	forest	45°27'40.8"N 13°40'18.6"E

¹Type of plant material: R - rootstock, cv.-cultivar, sp. - species, W - wild, F - feral genotype not considered as cultivar, ²Origin: SPGB - Slovenian plant gene bank of the University Center for Viticulture and Enology of the Faculty of Agriculture and Life Sciences, UL BF - University of Ljubljana Biotechnical Faculty, BG Wien - Botanischer Garten der Universität Wien (Austria), BG Graz-Botanischer Garten der Karl-Franzens-Universität Graz (Austria) ab. vineyard-abandoned vineyard

Data analysis

All unambiguous fragments were scored for the presence (1) or absence (0) of each band. The binary data matrix was used to calculate Dice's similarity coefficients (Dice, 1945), and a neighbor-joining tree was constructed using the DARWIN computer package (Perrier and Jacquemond-Collet, 2005). For each microsatellite locus, the num-

ber of alleles per locus (n), allele frequencies, observed (H_0) and expected heterozygosity (H_E) and polymorphic information content (PIC) were calculated using the Cervus 3.0.7 computer program (Marshall et al., 1998, 2014 version).

Results

A total of 188 alleles were detected at 12 microsatellite loci, while the number of alleles detected per locus ranged from 9 (VVMD 24) to 25 (VVMD 28), with an average of 16.33 alleles per locus (Table 2). The observed heterozygosity ranged between 0.583 (locus VVMD 36) and 0.931 (loci VVS 2, VVMD 7 and VVMD 28), with an average of 0.812. The expected heterozygosity ranged between 0.809 (locus VVMD 24) and 0.930 (loci VVMD 27 and VVMD 28), with an average of 0.877. The differences between the observed and expected heterozygosity were observed on all studied loci. The largest difference was observed on the locus VVMD 36 (0.223) and the lowest on the locus VVMD 28 (0.001). The averages of observed (0.812) and expected (0.877) heterozygosity were quite similar. The highest PIC value (polymorphic information content, PIC, is a measure of the quality of informativeness of molecular markers) was obtained on locus VVMD 28 (0.919) and the lowest on locus VVMD 24 (0.784). The obtained allele sizes and their frequencies are presented in Table 3, specific allele sizes for each cluster are listed in Table 4.

The dendrogram based on microsatellite data arranged the analyzed samples into five main clusters (Fig. 1), each consisting of several groups. In the first main cluster, there are the descendants of genetic recombination among American species, most probably involving *V. berlandieri*. 'SO4' and 'M VI' originate from crosses between *V. berlandieri* and *V. riparia*. The accessions Kalvaria 3, Kalvaria 2 and Kalvaria 4 (taken in a forest covering a surface of ca. 3 ha) represent one genotype, most probably the rootstock originating from the nearby abandoned vineyard, which 'escaped' to the forest by long vines. They could also be descendants of a single plant developed from a seed carried by a bird. All wild-grown genotypes of the fourth group of this cluster were collected in Northeast Slovenia and share several common morphological traits similar to the rootstock 'SO4' and 'M VI'.

The second cluster includes the three *V. vinifera* subsp. *sylvestris* reference genotypes and most

probably the descendants of natural crosses involving (1) *V. vinifera* subsp. *sylvestris* and *V. vinifera* subsp. *vinifera*, and/or (2) *V. vinifera* subsp. *sylvestris* and the North American germplasm. The first possibility appears to be most probable and can be supported by the findings of Salayeva et al. (2010), which showed that the wild populations of *Vitis* from regions near the Caspian Sea in Azerbaijan were molecularly similar to the gene pool of *V. vinifera* subsp. *vinifera* cultivated in that area. Based on molecular evidence, indications of natural hybridization between *V. vinifera* subsp. *sylvestris* and *V. vinifera* subsp. *vinifera* were also noted by Jahnke et al. (2016) in Hungary.

The third cluster includes accessions having the American germplasm which were collected in the Southwest part of the country, in Istria and neighboring regions, close to the Northeast Adriatic Coast. From the results of the molecular analysis, it is possible to assume that they are genetically diverse: some may represent original American rootstocks brought from Italy and some could be descendants of various artificial or natural crosses among the American genotypes. Considering their young shoots and leaves, it can be assumed that they combine traits of *V. berlandieri*, *V. riparia* and *V. rupestris*.

Table 2: SSR loci analyzed and parameters of genetic variability calculated for different microsatellite loci of the 70 *Vitis* genotypes: number of alleles (n), observed (H_0) and expected (H_E) heterozygosity, and polymorphic information content (PIC).

Locus	n	H_0	H_E	PIC
VVS 2	20	0.931	0.929	0.917
VVMD 5	14	0.722	0.900	0.884
VVMD 6	10	0.764	0.849	0.823
VVMD 7	17	0.931	0.908	0.894
VVMD 24	9	0.833	0.809	0.784
VVMD 25	13	0.792	0.862	0.840
VVMD 27	22	0.917	0.930	0.918
VVMD 28	25	0.931	0.930	0.919
VVMD 36	16	0.583	0.816	0.791
VrZag 62	15	0.694	0.887	0.870
VrZag 79	15	0.806	0.870	0.851
VrZag 112	12	0.847	0.833	0.806
Average	16.33	0.812	0.877	0.858

Table 3: Allele size (bp) and allele frequency (in parenthesis) of the 70 genotypes, at twelve microsatellite loci

VVS 2	VVMD 5	VVMD 6	VVMD 7	VVMD 24	VVMD 25	VVMD 27	VVMD 28	VVMD 36	VRZag 62	VrZag 79	VRZag 112
122	205	190	230	201	239	175	200	237	174	237	230
(0.0139)	(0.0069)	(0.0278)	(0.0347)	(0.0694)	(0.0347)	(0.0069)	(0.0069)	(0.0139)	(0.0069)	(0.0069)	(0.2569)
124	224	194	232	203	241	177	202	239	182	239	234
(0.0417)	(0.0833)	(0.0069)	(0.0694)	(0.1042)	(0.1736)	(0.0069)	(0.0069)	(0.3403)	(0.0208)	(0.0278)	(0.0208)
126	226	198	234	205	243	179	218	241	188	241	236
(0.0208)	(0.1111)	(0.0069)	(0.0556)	(0.3681)	(0.2361)	(0.0139)	(0.1042)	(0.0139)	(0.0903)	(0.0208)	(0.0556)
128	230	200	238	207	245	181	220	243	190	243	238
(0.0278)	(0.0625)	(0.0347)	(0.1042)	(0.0903)	(0.0556)	(0.0417)	(0.0417)	(0.0139)	(0.1042)	(0.0208)	(0.0139)
132	232	202	242	209	247	183	222	247	192	245	240
(0.0694)	(0.1181)	(0.1319)	(0.0417)	(0.0833)	(0.0139)	(0.0139)	(0.0347)	(0.0278)	(0.1181)	(0.0764)	(0.0694)
134	234	206	244	211	251	185	228	249	194	247	242
(0.0903)	(0.1458)	(0.2222)	(0.0417)	(0.1458)	(0.0764)	(0.0764)	(0.0069)	(0.0625)	(0.1458)	(0.0694)	(0.1875)
136	236	208	246	213	253	187	230	251	196	249	244
(0.0694)	(0.0486)	(0.1597)	(0.0278)	(0.0069)	(0.1597)	(0.0625)	(0.0417)	(0.2292)	(0.2222)	(0.0417)	(0.2361)
138	238	210	248	215	255	189	234	253	198	251	248
(0.0417)	(0.0139)	(0.1806)	(0.0139)	(0.0833)	(0.0417)	(0.1319)	(0.0069)	(0.0972)	(0.0139)	(0.1875)	(0.0486)
140	240	212	250	217	259	191	236	259	200	255	250
(0.0278)	(0.0139)	(0.0694)	(0.1806)	(0.0486)	(0.1389)	(0.1319)	(0.0486)	(0.0278)	(0.0486)	(0.1389)	(0.0347)
142	248	216	252	/	261	193	238	261	202	257	254
(0.1250)	(0.0278)	(0.1597)	(0.0625)		(0.0069)	(0.0486)	(0.1319)	(0.0417)	(0.0625)	(0.0764)	(0.0069)
144	250	/	254	/	271	195	240	263	204	259	256
(0.0278)	(0.0417)		(0.0208)		(0.0347)	(0.0417)	(0.0208)	(0.0278)	(0.0069)	(0.2431)	(0.0625)
146	260	/	256	/	273	197	242	265	206	261	262
(0.0903)	(0.0417)		(0.0278)		(0.0139)	(0.0069)	(0.0208)	(0.0208)	(0.0486)	(0.0278)	(0.0069)
148	262	/	258	/	275	201	244	273	210	263	/
(0.0208)	(0.1458)		(0.0347)		(0.0139)	(0.0139)	(0.0556)	(0.0069)	(0.0139)	(0.0278)	
150	264	/	260	/	/	203	246	277	214	267	/
(0.1111)	(0.1389)		(0.0347)			(0.0069)	(0.1389)	(0.0069)	(0.0278)	(0.0139)	
152	/	/	262	/	/	205	248	292	216	273	/
(0.1181)			(0.0625)			(0.0278)	(0.0694)	(0.0347)	(0.0694)	(0.0208)	
154	/	/	264	/	/	207	250	294	/	/	/
(0.0208)			(0.1736)			(0.0556)	(0.0417)	(0.0347)			
156	/	/	274	/	/	209	252	/	/	/	/
(0.0486)			(0.0139)			(0.0972)	(0.0069)				
158	/	/	/	/	/	211	254	/	/	/	/
(0.0069)						(0.0625)	(0.0833)				
160	/	/	/	/	/	213	256	/	/	/	/
(0.0208)						(0.0764)	(0.0417)				
162	/	/	/	/	/	217	262	/	/	/	/
(0.0069)						(0.0417)	(0.0347)				
/	/	/	/	/	/	219	268	/	/	/	/
						(0.0208)	(0.0278)				
/	/	/	/	/	/	221	270	/	/	/	/
						(0.0139)	(0.0069)				
/	/	/	/	/	/	/	274	/	/	/	/
							(0.0069)				
/	/	/	/	/	/	/	280	/	/	/	/
							(0.0069)				
/	/	/	/	/	/	/	286	/	/	/	/
							(0.0069)				

Table 4: Specific allele sizes (bp) and their frequencies for each cluster

	Cluster 1	Cluster 2	Cluster 3	Cluster 4	Cluster 5
VVS 2	150 (0.4231)	152 (0.351)	136 (0.1818)	124, 136, 142, 146 (0.1250)	134, 152 (0.2083)
VVMD 5	234 (0.4615)	226 (0.3214)	264 (0.2273)	262 (0.2500)	232 (0.2917)
VVMD 6	210 (0.5000)	202 (0.4643)	206 (0.4091)	216 (0.3750)	208 (0.3750)
VVMD 7	264 (0.3462)	264 (0.3214)	250 (0.2273)	250 (0.3250)	238 (0.5000)
VVMD 24	205 (0.3077)	211 (0.6071)	205 (0.6364)	205 (0.6000)	207 (0.2917)
VVMD 25	243, 251 (0.2692)	259 (0.5714)	243 (0.3636)	241 (0.3750)	243 (0.3750)
VVMD 27	191 (0.2692)	189 (0.4643)	193, 213 (0.1818)	209 (0.2000)	189 (0.2500)
VVMD 28	254 (0.3462)	238 (0.3571)	248 (0.1818)	246 (0.3750)	220, 238 (0.2083)
VVMD 36	239, 251 (0.3077)	251 (0.2143)	239 (0.3636)	239 (0.6250)	251 (0.4167)
VrZag 62	216 (0.2308)	196 (0.5000)	192 (0.3182)	190 (0.2500)	188,194 (0.3333)
VrZag 79	251 (0.2692)	251 (0.4643)	255 (0.3182)	259 (0.3000)	259 (0.2500)
VrZag 112	230, 242 (0.3846)	230 (0.5357)	244 (0.4091)	244 (0.3000)	230, 242 (0.2500)

The fourth cluster includes four separate groups and a distinct genotype 274. In group 1, there are two *V. riparia* genotypes and their hybrids. This species also involves the rootstock 'Boerner'. The second group most probably includes three genotypes of *V. rupestris*; two are named as such and the third is Kalvaria 1, while the accession 191 (Nunska graba 1) could be a backcross hybrid (*V. riparia* × *V. rupestris*) × *V. rupestris*. In the third group, there are four accessions which probably represent direct hybrids or backcrosses of *V. labrusca* with *V. riparia* or *V. rupestris*, or hybrids involving three species (i.e., *V. labrusca*, *V. riparia*, *V. rupestris*). In the fourth group, there are only three accessions, and according to the morphological characteristics of the leaves and young shoots, these accessions (186, 188 and 242) could be natural hybrids involving *V. riparia* and *V. longii*. Accession 274 appears to be different. It possibly combines the gene pool of *V. longii* with *V. rupestris* and *V. riparia*. The fifth cluster consists of *V. vinifera* subsp. *vinifera* germplasm, including reference cultivars.

Discussion

The majority of wild-grown accessions included in the study can be considered as descendants of the North American germplasm. Most of them originate from four American species (*V. berlandieri*, *V. labrusca*, *V. riparia*, *V. rupestris*) and their hybrids brought to the country as rootstock material by the agricultural institutions of the Austro-Hungarian Empire, and later by the Kingdom of Yugoslavia and the Kingdom of Italy. The first North American genotypes were introduced in the mid-19th century, during the period of the Austro-Hungarian Empire which included a great part of Northeast Italy. The plant materials were introduced (1) from the west or south-west of the country (most probably from Italy) (e.g., cluster III) and (2) from the east or south-east (most probably from Hungary and the Balkans) (e.g., cluster I).

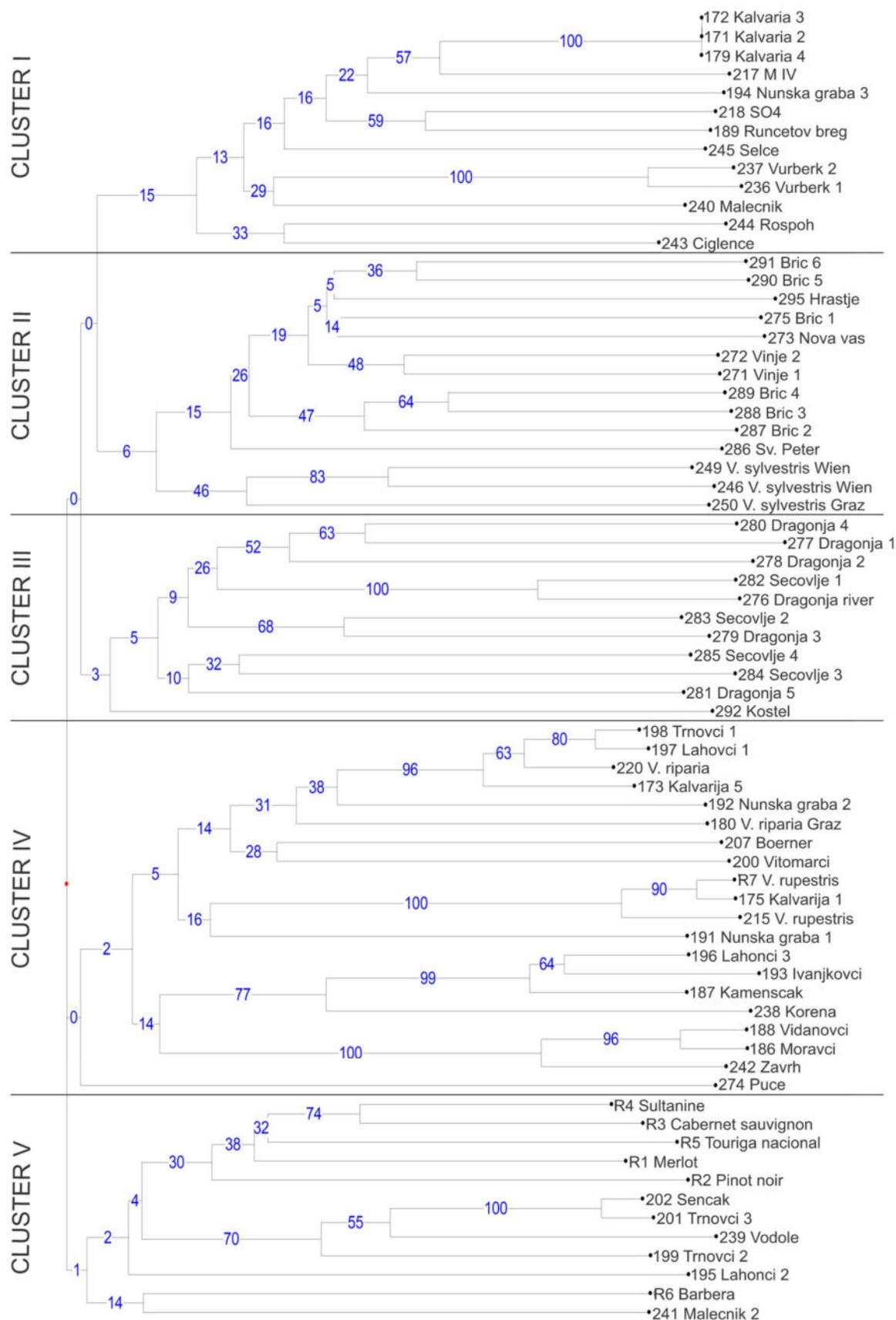


Fig. 1: Neighbor-joining tree based on microsatellite data involving 70 genotypes

V. berlandieri × *V. riparia*, *V. riparia* and *V. rupestris* dominated in and around abandoned vineyards, away from settlements, while *V. labrusca* appeared to be more common close to settlements. The majority of introduced *V. labrusca* genotypes were planted as replacements for the traditional, susceptible table and wine cultivars. With the development of new production technologies (i.e., the use of phylloxera-resistant or tolerant rootstocks and fungicides), *V. labrusca* and its hybrids began to lose importance. For successful traditional growers, they became undesirable and were consequently reduced or exterminated. However, it was very difficult to remove them completely because the plants were vigorous and resistant to most diseases. One consequence was the 'migration' of *V. labrusca* and its hybrids away from vineyards. Other rootstock materials (*V. berlandieri* × *V. riparia*, *V. riparia* and *V. rupestris*) survived in more or less the same way.

The wild relative, genetically 'pure' *V. vinifera* subsp. *sylvestris* was not found among the collected and analyzed wild-grown plants. If it still exists, it is probably very rare. Before the appearance of phylloxera, it was probably very common. There were probably three main reasons for the drastic reduction of its presence in natural habitats: (1) susceptibility to phylloxera, (2) intensive agriculture and (3) natural and artificial reforestation. Farmers and foresters treated these plants as weeds and tended to remove them because they could cause significant damage, especially to young trees. This is practiced even today. According to Bodor et al. (2010), the wild grape (*V. vinifera* subsp. *sylvestris*) has become a highly threatened species in Europe mainly because of habitat loss, competition with alien grape species and intensive forest exploitation. Regarding neighboring countries, only small populations could be found in Austria in the riparian woods and floodplains of Danube and March east of Vienna (Regner et al., 2004; Tiefenbrunner et al., 2015; Arnold et al., 2017), in the eastern Adriatic coast in Croatia and Bosnia and Herzegovina (Zdunic et al., 2017, 2020) in ten Italian regions (Biagini et al., 2014) and in Hungary (Jahnke et al., 2016; Bodor et al., 2010). However, allelic diversity of wild grape could be efficiently preserved in descendants of its crosses with cultivated *V. vinifera* subsp. *vinifera* or with much more resistant

American genotypes. In our study, these hypothetical genotypes are listed in cluster 3. Similar conclusions are mentioned by Bodor et al. (2010), who identified interspecific hybrids of *V. sylvestris* and *V. riparia* on the territory of Szentendre Island, Hungary.

Vegetative propagation was probably crucial for the survival of the North American germplasm in this part of the world. As a vineyard was abandoned or cleared for replanting or another purpose by pushing the old grapevine plants to the edges, many of the rootstock plants began to regrow and spread with long vines to the nearby areas, which were often bushy. They easily climbed the trees and began to dominate. However, our analysis suggests that sexual propagation was probably also present. Vegetative propagation alone cannot explain such a high level of genetic and phenotypic variation, even if we assume that there were several introductions, which could have involved genetically diverse materials. In abandoned vineyards, pest- and disease-resistant rootstocks sprouted, flowered (often being dioecious plants) and produced fruit, which were eaten by various animals, particularly birds, and people. In this way, the seeds were spread around.

Wild-growing grapevine plants of North American origin can also be found far from their original vineyards, for example in remote forests. The forest environment is probably much more favorable for seeds to germinate than open grassland. In late autumn, the seeds are covered by fallen leaves, which maintain the moisture and temperature levels necessary for wintering and germination in early spring.

Our evidence suggests that sexual propagation is probably most frequent among *V. labrusca* genotypes. Numerous genotypes belonging to this species are grown for consumption or production of juice or low-quality wine. However, this is not the case with other species like *V. riparia*, *V. rupestris*, or *V. berlandieri*. During processing of *V. labrusca*, the seeds and residue of processed fruit are not destroyed but usually deposited in various places around settlements, forest edges or fields, and some of these seeds germinate and develop into mature plants. The wild-growing grapevines in this study belonged to a range of

species and interspecific hybrids. Natural hybridization probably involved intra- and interspecific combinations, although we did not study the share of each. Considering the dioecy, we can assume that interspecific hybridization was probably frequently present. As indications, some of the specimens included in the study and classified as *V. riparia* or *V. rupestris* exhibited some, although limited, morphological differences and greater variation, and they appeared to be much more vigorous than the plants considered as standards of each species being studied. This could be explained if specimens belonging to the *V. riparia* cluster were descendants of more complex crosses (e.g. a backcross (*V. riparia* × *V. rupestris*) × *V. riparia*).

Very complex hybrids probably do not exist. There are several reasons for that: (1) the time period since the first introduction of North American germplasm is relatively short (ca. 130 years); (2) individual plants may live and be fruitful for several centuries; (3) in the less favorable environmental conditions of Southwest and Northeast Slovenia, vegetative propagation is much more efficient than propagation by seed, and (4) in natural conditions, crosses involving different species are generally less frequent. It is also possible that some of the wild-grown genotypes may belong to the original clones that were introduced more than a century ago.

The existing wild-growing grapevines are the result of sophisticated genetic processes that involve natural intra- and interspecific crosses, genetic segregation associated with natural and artificial selection, and epigenetic processes. The genetic changes, however, have been limited because of predominant clonal reproduction and the lengthy life cycle of plants. Since the plants have been able to survive in tough natural conditions for so long, they can be a very useful source of allelic diversity for genetic breeding or can be used directly as rootstock material.

Acknowledgments

The authors would like to express their gratitude to the authorities of the Botanical Garden of the University of Vienna and the Botanical Garden of the University of Graz (Austria) for the reference materials of *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris* and *Vitis riparia*.

References

- Arnold, C.** 1998: Position of wild grapevine *Vitis vinifera* ssp. *sylvestris* in Europe. *Vitis* 37: 159-170.
- Arnold, C., Bachmann, O., Schnitzler, A.** 2017: Insights into the *Vitis* complex in the Danube floodplain (Austria). *Ecology and Evolution* 7(19): 7796–7806.
- Arnold, C., Schnitzler, A.** 2020: Ecology and genetics of natural populations of North American *Vitis* species used as rootstocks in European grapevine breeding programs. *Frontiers in Plant Science* 11: 866.
- Arnold, C., Schnitzler, A., Parisot, C., Maurin, A.** 2010: Historical reconstruction of a relictual population of wild grapevines (*Vitis vinifera* subsp. *sylvestris*, Gmelin, Hegi) in a floodplain forest of the upper Seine valley, France. *River Research and Applications* 26(7): 904–914.
- Bacilieri, B., Lacombe, T., Le Cunff, L., Di Vecchi-Staraz, M., Laucou, V., Genna, B., Peros, J.P., This, P., Moursiquot, J.M.** 2013: Genetic structure in cultivated grapevines is linked to geography and human selection. *BMC Plant Biology* 13: 25.
- Biagini, B., De Lorenzis, G., Imazio, S., Failla, O., Scienza, A.** 2014: Italian wild grapevine (*Vitis vinifera* L. subsp. *sylvestris*) population: Insights into eco-geographical aspects and genetic structure. *Tree Genetics and Genomes* 10: 1369–1385.
- Bodor, P., Höhn, M., Pedryc, A., Deák, T., Dúcsö, I., Uzun, I., Cseke, K., Böhm, E.I., Bisztray, G.D.** 2010: Conservation value of the native Hungarian wild grape (*Vitis sylvestris* Gmel.) evaluated by microsatellite markers. *Vitis* 49: 23-27.
- Bowers, J.E., Dangl, G.S., Vignani, R., Meredith, C.P.** 1996: Isolation and characterisation of new polymorphic simple sequence repeat loci in grape (*Vitis vinifera* L.). *Genome* 39: 628-633.
- Bowers, J.E., Dangl, G.S., Vignani, R., Meredith, C.P.** 1999: Development and characterisation of additional microsatellite DNA markers for grape. *American Journal of Enology and Viticulture* 50: 243-246.
- Cunha, J., Ibáñez, J., Teixeira-Santos, M., Brazão, J., Feveiro, P., Martínez-Zapater, J.M., Eiras-Dias, J.E.** 2020: Genetic relationships among Portuguese cultivated and wild *Vitis vinifera* L. germplasm. *Frontiers Plant Science* 11: 127.
- Dice, L.R.** 1945: Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology* 26: 297-302.
- D'onofrio, C.** 2020: Introgression among cultivated and wild grapevine in Tuscany. *Frontiers in Plant Science* 11: 202.
- Doyle, J.J., Doyle, J.L.** 1987: A rapid isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical bulletin* 19 (1): 11-15.
- Fort, K., Fraga, J., Grossi, D., Walker, M.A.** 2017: Early measures of drought tolerance in four grape rootstocks. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 142 (1): 36-46.
- Granett, J., Walker, M.A., Kocsis, L., Omer, A.J.** 2001: Biology and management of grape phylloxera. *Annual Review of Entomology* 46: 387-412.
- Jahnke, G., Nagy, Z. A., Koltai, G., Hajdu E., Májer, J.** 2016: Preservation and characterization of woodland grape (*Vitis vinifera* ssp. *sylvestris* Gmel.) genotypes of the

Szigetköz, Hungary. In: WALTON, M. (Editor): Germplasm characteristics, diversity and preservation Genetics and Research – Issues. S. 27-45. - New York: Science Publishers, 2016

Lacombe, T., Laucou, V., Di Vecchi, M., Bordenave, L., Bourse, T., Siret, R., David, J., Boursiquot, J.M., Bronner, A., Merdinoglu, D., This, P. 2003: Contribution to characterization and *in situ* protection of populations of *Vitis vinifera* L. ssp. *sylvestris* (Gmelin) Hegi. Fourth National Colloquium of BRG, La Châtre 14–16 October 2002. Les Actes du BRG 4, France, S. 381–404.

Levadoux, L. 1956: Wild and cultivated populations of *Vitis vinifera* L. Plant Breeding Annals 6: 59–117.

Marshall, T.C., Slate, J., Kruuk, L.E.B. and Pemberton, J.M. 1998: Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. Molecular Ecology Notes 7: 639-655.

Maul, E., Sudharma, K.N., Kecke, S., Marx, G., Müller, C., Audeguin, L., Boselli, M., Boursiquot, J.M., Bucchetti, B., Cabello, F., Carraro, R., Crespan, M., Andrés, M.T., Eiras Dias, J., Ekhdevaia, J., Gaforio, L., Gardiman, M., Grando, S., Agyropoulos, D., Jandurova, O., Kiss, E., Kontić, J., Kozma, P., Lacombe, T., Laucou, V., Legrand, D., Maghradze, D., Marinoni, D., Maletić, E., Moreira, F., Muñoz-organero, G., Nakhutsrishvili, G., Pejić, I., Peterlunger, E., Pitsoli, D., Pospíšilová, D., Prener, D., Raimondi, S., Regner, F., Savin, G., Savvides, S., Schneider, A., Sereno, C., Simon, S., Staraz, M., Zulini, L., Bacilieri, R., This, P. 2012: The European *Vitis* Database (www.eu-vitis.de) – a technical innovation through an on-line uploading and interactive modification system. *Vitis* 51: 79-86.

Maul, E., Töpfer, R., Caraka, F., Cornea, V., Crespan, M., Dallakyan, M., de Andrés Domínguez, T., de Lorenzis, G., Dejeu, L., Goryslavets, S., Grando, S., Hovannisyan, N., Hudcovicova, M., Hvarleva, T., Ibáñez,

J., Kiss, E., Kocsis, L., Lacombe, T., Laucou, V., Maghradze, D., Maletić, E., Melyan, G., Mihaljević, M.Z., Muñoz-Organero, G., Musayev, M., Nebish, A., Popescu, C.F., Regner, F., Risovanna, V., Ruisa, S., Salimov, V., Savin, G., Schneider, A., Stajner, N., Ujmajuridze, L., Failla, O. 2015: Identification and characterization of grapevine genetic resources maintained in Eastern European Collections. *Vitis* 54: 5-12.

Ocete, R., Arnold, C., Failla, O., Lovicu, G., Biagini, B., Imazio, S., et al. 2011: Considerations on the European wild grapevine (*Vitis vinifera* L. ssp. *sylvestris* (Gmelin) Hegi) and Phylloxera infestation. *Vitis* 50 (2): 97–98.

OIV, 2009: OIV descriptor list for grape varieties and *Vitis* species (2nd edition). O. I. V. (salayeva), Dedon, Paris.

Pavlousek, P. 2011: Evaluation of drought tolerance of new grapevine rootstock hybrids. *Journal of Environmental Biology* 32: 543-549

Perrier, X., Jacquemoud-Collet, J.P. 2005: DARwin-5.0. Dissimilarity analysis and representation for Windows. User's manual. CIRAD, Montpellier

Regner, F., Hack, R., Gangl, H., Leitner, G., Mandl, K., Tiefenbrunner, W. 2004: Genetic variability and incidence of systemic diseases in wild vines (*Vitis vinifera* ssp. *sylvestris*) along the Danube. *Vitis* 43(2): 123-130.

Salayeva, S., Akhundova, E., Mammadov, A. 2010: Evaluation of DNA polymorphism among cultivated and wild grapevine accessions from Azerbaijan. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding* 46: 75-84.

Sefc, K.M., Regner, F., Turetschek, E., Glössl, J., Steinkellner, H. 1999: Identification of microsatellite sequences in *Vitis riparia* and their applicability for genotyping

of different *Vitis* species. Genome 42: 367-373.

Schneider, A., Boccacci, P., Ruffa, P., Marinoni, D.T., Cavallo, L., Festari, I., Rotti, G., Raimondi, S. 2015: Identification and characterization of *Vitis vinifera* subsp. *Sylvestris* populations in north-western Italy. *Vitis* 54: 223-225.

Skalicky, B. 1907a. Choice of American vine rootstock. *Kmetovalec* 24(1): 1-6.

Skalicky, B. 1907b. Choice of American vine rootstock. *Kmetovalec* 24(2): 15-17.

Šiško, M., Javornik, B., Šiftar, A., Ivančič, A. 2009: Genetic relationships among Slovenian pears assessed by molecular markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 134: 97-108.

Štajner, N., Rusjan, D., Korošec-Koruza, Z., Javornik, B. 2011: Genetic characterization of old Slovenian grapevine varieties of *Vitis vinifera* L. by microsatellite genotyping. *American Journal of Enology and Viticulture* 62: 220-255.

This, P., Lacombe, T., Thomas, M.R. 2006: Historical origins and genetic diversity of wine grapes. *Trends in Genetics* 22: 511-9.

Tiefenbrunner D., Gangl H., Leitner G., Tiefenbrunner W. 2015: Blattgestalt und -vielfalt bei der wilden weinrebe (*Vitis vinifera* ssp. *sylvestris*) der march- und donauauen im vergleich zur kulturrebe. *Mitteilungen klosterneuburg* 65: 143-156.

Vrščič, S., Ivančič, A., Šušek, A., Zagradišnik, B., Valdhuber, J., Šiško, M. 2011: The world's oldest living grapevine specimen and its genetic relationships. *Vitis* 50 (4): 167-171.

Zdunić, G., Maul, E., Hančević, K., Leko, M., Butorac, L., Mucalo, A., Radić, T., Šimon, S., Budić-Leto, I., Žulj Mihaljevič, M., Maletič, E. 2017: Genetic diversity of wild grapevine [*Vitis vinifera* L. subsp. *sylvestris* (Gmel.) Hegi] in the Eastern Adriatic Region. *American Journal of Enology and Viticulture* 68: 252-257.

Zdunić, G., Lukšič, K., Nagy, Z.A., Mucalo, A., Hančević, K., Radić, T., Butorac, L., Jahnke, G.G., Kiss, E., Ledesma-Krist, G., et al. 2020: Genetic structure and relationships among wild and cultivated grapevines from Central Europe and part of the Western Balkan Peninsula. *Genes* 11: 962.

Zhang, L., Marguerit, E., Rossdeutsch, L., Ollat, N., Gambetta, G.A. 2016: The influence of grapevine rootstocks on scion growth and drought resistance. *Theoretical and Experimental Plant Physiology* 28: 143-157.

Zohary, D., Hopf, M. 2000: Domestication of plants in the Old World: The origin and spread of cultivated plants in West Asia, Europe, and the Nile Valley. 3rd ed. - New York, Oxford University, 2000

Received April, 8th, 2021

Erfassung und Erhaltung hochlagentauglicher Apfelsorten im Gebiet Naturpark Ötscher-Tormäuer in Niederösterreich

Andreas Spornberger, Daniela Noll, Philipp Bodner und Gerlinde Grall

Universität für Bodenkultur, Department für Nutzpflanzenwissenschaften,
Institut für Wein- und Obstbau
A-1180 Wien, Gregor-Mendel-Straße 33
E-Mail: andreas.spornberger@boku.ac.at

Von 2018 bis 2020 wurden in den fünf Gemeinden rund um den Ötscher (Niederösterreich) vorhandene Apfelsorten erhoben, mit dem Ziel, für Erhaltung und Auspflanzung in dieser Hochlagen-Region besonders geeignete Sorten zu finden. Insgesamt wurden dazu 312 Apfelbäume aufgenommen, bei über 60 % konnte die Sorte bestimmt werden. Sieben Apfelsorten wurden sehr häufig (>8x) und 22 weitere mehrmals (>2x) vorgefunden. Zur Sortenerhaltung wurden Mutterbäume für den Reiserschnitt ausgewählt und markiert. Aufgrund des hohen Baumalters von meist 50 bis 80, teilweise auch bis 140 Jahren, finden diese Bäume offenbar geeignete Wachstums- und Entwicklungsbedingungen vor und können als höhentauglich eingestuft werden. Als besonders interessant für das Gebiet wird die Lokalsorte 'Annaberger Maschankker' erachtet, von der noch ein nachweislich bis zu 150 Jahre alter Baum steht. Außerdem wurden mehrere Zufallssämlinge untersucht, zwei davon als besonders wertvoll und daher als vermehrungswürdig klassifiziert. Durch Öffentlichkeitsarbeit und Aktivitäten des Naturpark Ötscher-Tormäuer sollen die für das Gebiet besonders interessanten Sorten erhalten und weiter ausgepflanzt werden.

Schlagwörter: Obstsorten, Apfel, Höhenlage, Sortenbestimmung, Sortenerhaltung

Recording and preservation of apple cultivars suitable for high altitudes in the region of Naturpark Ötscher-Tormäuer in Lower Austria. From 2018 to 2020 locally grown apple cultivars were investigated in the five communities around the Ötscher in Lower Austria. The aim was to find cultivars that are adapted to this particular region of high altitude. A total of 312 apple trees were recorded and over 60 % of the cultivars could be determined. Seven cultivars were found very frequently (>8x) and 22 frequently (>2x). To preserve the varieties, mother trees for cutting scions were selected and marked. The high age of the trees – 50 to 80, sometimes up to 140 years – shows that these trees apparently find favorable growing conditions here and therefore can be classified as suitable for high-altitude fruit growing. The local variety 'Annaberger Maschankker' is considered to be particularly interesting for the region, where a 150-year-old tree of this variety is still yielding. Furthermore, several random seedlings were investigated, two of which were classified as particularly valuable and therefore worth propagating. Public relations and activities by Naturpark Ötscher-Tormäuer should help to preserve and further plant new trees of the found cultivars that are suitable for high altitudes and adapted to the region.

Keywords: fruit varieties, apple, high altitude, cultivar determination, cultivar preservation

Der Ötscher ist mit 1893 m der weithin sichtbare, höchste Berg im niederösterreichischen Mostviertel. Das im Gebiet in abgeschwächter Form vorhandene alpine Klima (ZAMG, 2020) ist von einem winterkalten und insgesamt nur mäßig sommerwarmen bis kühlen, niederschlagsreichen Klima geprägt. In Mariazell (875 m), der nächstgelegenen Messstation, beträgt im langjährigen Durchschnitt der Jahre 1981 bis 2010 die mittlere Jahrestemperatur 6,1 °C, und die mittlere jährliche Niederschlagssumme 1.180 mm (Landesstatistik Steiermark, 2021). Allgemein handelt es sich um ein relativ schneesicheres und vor allem in den Talbecken nebelreiches Gebiet mit erhöhtem Frostrisiko. Trotz dieser herausfordernden Bedingungen wird auf vielen Höfen seit langem Obstbau vorwiegend zur Selbstversorgung betrieben. Die Jahrestemperatur beeinflusst die Länge der Vegetationsperiode und die Häufigkeit von Frostereignissen (Dierent, 2009). Im Mittel sinkt die Temperatur bei steigender Höhe um 0,6 °C pro 100 Meter (Micheletti et al., 2010), dadurch nimmt auch die Höhenlage Einfluss auf den Anbau von Obst. Tiefe Wintertemperaturen in Kombination mit Aufwärmern der Rinde untertags an der Sonnenseite können Schäden am Holz und Risse im Stammbereich verursachen (Love et al., 2009), durch Schneelast kann es zum Bruch von Astpartien oder ganzer Bäume kommen. Einen indirekten Einfluss auf die Fruchtentwicklung hat die Höhenlage durch die kürzere Vegetationszeit und damit verbunden durch mangelnde Wärme- und Sonnenstunden. Obst, das in manchen Jahren nicht ausreifen kann oder einen geringen Gehalt an Zucker oder Aromen hat, kann die Folge sein. Die Frostfestigkeit des Holzes und der Blütezeitpunkt spielen eine große Rolle für den Obstbau in Hochlagen (Hildebrandt und Maurer, 1948). Vor allem frühe Fröste im Herbst können an noch nicht verholzten Trieben Schäden anrichten. Zugleich sind früh blühende Sorten meist stärker durch Spätfröste gefährdet (Inforama, 2016).

Je später eine Sorte blüht, umso weniger gefährdet ist sie gegenüber Spätfrost (Hildebrandt und Maurer, 1948). Um die optimale Fruchtreife zu gewährleisten, muss darauf geachtet werden, nicht zu spät reifende Obstsorten anzupflanzen. Ebenso sollten in rauen Lagen stark wärmebedürftige Sorten eher gemieden werden (Love et al., 2009) bzw. mit Bedacht und unter Berücksichtigung des vorhandenen Mikroklimas gepflanzt werden. Ein Südhang erhält beispielsweise ca. das Vierfache an Sonnenstrahlung im Vergleich

zu einem Nordhang, ein West- oder Osthang das Doppelte. Auch heizt im Winter die Sonne steile Flächen viel stärker auf als flache Tallagen (Micheletti et al., 2010).

Aufgrund der Klimabedingungen in der Region kann davon ausgegangen werden, dass die auf den Höfen vorhandenen und gut gedeihenden Obstsorten an die klimatischen Bedingungen und das daraus resultierende Krankheitsaufkommen angepasst sind. Ziel der Arbeit ist es, auf ausgewählten Standorten in den fünf Gemeinden rund um den Ötscher die vorhandenen Obstbäume, vor allem Apfel, zu erfassen, die zur Verfügung stehenden Sorten zu bestimmen und deren Eignung zu erforschen. Als Grundlage zur Erhaltung und Vermehrung sollten die vorgefundenen Bäume kartiert und digital verortet werden, um vor allem besonders interessante und regionstypische Sorten als Mutterbäume für die Gewinnung von Edelreisern später auffinden und verwenden zu können. Außerdem war es Ziel der Arbeit, den Begriff "Hochlagenobst" wissenschaftlich zu etablieren.

Material und Methoden

Um das Klima in der Region – als wesentlichen Faktor des Projektes – zu erfassen, wurden allgemeine Klimadaten der nächstgelegenen Messstation in Mariazell herangezogen. Jahresmittelwerte von Lufttemperatur und Niederschlag sowie die Temperaturminima der einzelnen Jahre des vergangenen Jahrzehnts bildeten die Basis dafür. Aus den Projektjahren 2018 bis 2020 wurden zusätzlich relevante klimatische Kennwerte in der Vegetationsperiode (April bis Oktober) analysiert.

Im Untersuchungszeitraum von 2018 bis 2020 wurden insgesamt 24 Höfe, ausgewählt in Absprache mit dem Naturpark und aufgeteilt auf die fünf Gemeinden Annaberg, St. Anton, Puchenstuben, Mitterbach und Gaming, zur Erntezeit der Früchte besucht, um die vorhandenen Obstsorten zu bestimmen. Zusätzlich wurden noch Einzelbäume oder Früchte von anderen Höfen bzw. Standorten innerhalb des Aufnahmegebiets aufgenommen. Die Standorte liegen vorwiegend zwischen 700 und 900 Meter über dem Meeresspiegel, nur wenige waren mit 490 bis 550 Meter etwas darunter und daher etwas begünstigter hinsichtlich der Höhenlage.

Beim Rundgang auf den Höfen wurden die für dieses Projekt interessanten Obstgehölze (Äpfel,

Birnen und vereinzelt Prunus-Arten) aufgenommen. Der Fokus der pomologischen Bestimmungsarbeiten wurde auf Äpfel gelegt. Es wurden Fotos und Notizen zu Standort der Bäume und (vermutete) Sorte gemacht und als Grundlage zur Baumkartierung in gedruckte Luftbilder eingezeichnet. Jeder Baum wurde mit einer Nummer versehen, so entstand für jeden

Standort ein Plan (Abb. 1). Gegebenenfalls wurden weitere interessante Merkmale, wie Baumalter, -zustand, Wuchseigenschaften, Fruchtbehang, Krankheitsmerkmale, notiert. Weitere Details zu den Bäumen (wie Unterlage, Alternanz, Frostanfälligkeit etc.) wurden nicht erhoben, da die meisten Besitzer keine verlässlichen Angaben dazu machen konnten.



Baumnummer	Fruchtart	Sorte nach Bestimmung		Sorte lt. Besitzer	sonstige Bemerkungen
		sicher	unsicher		
1	Myrobalane *	Myrobalane gelb Typ I (AB)			
2	Kriecherl	Kriecherl gelb (AB)			ev. ident mit Gruber 1
3	Birne		Mostbirne	Zuckerbirne	
4	Apfel *03	Weinapfel (AB)		Weinapfel	
5	Apfel	Roter Trierscher Weinapfel (1. Sorte)			mehrfach veredelt, 1. Sorte Ast nach links gehend
6	Apfel	Bismarck		Lagerapfel	
7	Apfel	Haslinger (1. Sorte), Gelber Edelapfel (2. Sorte)			mehrfach veredelt
8	Apfel		Sämling		
9	Apfel *07	Riesenboiken			
10	Apfel	Riesenboiken			
11	Apfel *06	Graue Herbstrenette			
12	Ringlotte	Ringlotte purpur (AB)			ev. Graf Althans Reneklode, Früchte überreif
13	Apfel	Brünnerling			
14	Apfel	Sämling			
15	Apfel *08	Boikenapfel			

* = Reiserschnittbaum

AB= Arbeitsbezeichnung

Abb. 1: Baumkartierung und Sortenbestimmung am Beispiel "Weishof" (Annaberg)

Manche Sorten wurden aufgrund von Baum- und Fruchtigenschaften direkt vor Ort bestimmt. Hinweise der Besitzer waren dabei hilfreich, aufgrund oft leerstehender Höfe jedoch nur selten verfügbar.

Bei der Probenahme wurden, falls vorhanden, Schorf (*Venturia inaequalis*) und Regenflecken- und Fliegenschmutzkrankheit (*Schizothyrium pomi* u. a.) an den Früchten bonitiert. Außerdem wurde an manchen Bäumen Obstbaumkrebs (*Nectria galligena*) gesichtet, Marssonien-Blattfallkrankheit (*Diplocarpon mali*) hingegen nicht. Blattschorf, Obstbaumkrebs, Mehltau (*Podosphaera leucotricha*) u. a. Krankheiten wurden in der Gesamtbonitur der Robustheit mit erfasst. Mögliche Symptome von Feuerbrand (*Erwinia amylovora*) gingen in diese Bewertung mit hinein, die wir bei unseren Erhebungen im Spätsommer/Herbst nur an wenigen Apfelbäumen gefunden haben und die nicht eindeutig von z. B. Monilia (*Monilinia ssp.*) zu unterscheiden waren.

Wenn möglich, wurden pro Baum 10 Früchte gesammelt und mitgenommen und im Kühlraum des Instituts in Wien bei 4 °C gelagert. Die Aufarbeitung der Fruchtproben erfolgte im Labor des Instituts, entweder einige Tage nach der Probenahme oder zum ungefähren Reifezeitpunkt in den darauffolgenden Wochen und umfasste eine Fruchtbeschreibung, Messungen, Fotodokumentation und nach Möglichkeit Sortenbestimmung.

Die Beschreibung der Fruchtproben erfolgte auf Grundlage der Sortenbeschreibungsblätter der ARGE Streuobst und umfasste folgende Merkmale: Reifezeitpunkt, Lagerfähigkeit, Nutzungseignung, deskriptive Parameter zu Größe, Form, Stiel und Stielbucht, Kelch und Kelchbucht, Farbe, Berostung, Schalenbeschaffenheit, Kerngehäuse und Samen, Fruchtfleisch und Geschmack. An jeweils 6 Früchten wurden außerdem folgende Messungen durchgeführt: Fruchtgewicht in g mit einer elektrischen Laborwaage (FA-2000S, Sartorius, Göttingen, Deutschland), Stiellänge und -dicke sowie Fruchtmaße mithilfe einer digitalen Schieblehre, woraus der Fruchtformindex (FFI) als Maß für die Gestalt einer Frucht nach der Formel $\text{Höhe}^2 / (\text{Breite} \times \text{Dicke})$ errechnet wurde (Keppel et al., 2018), sowie der Gehalt an löslicher Trockensubstanz

(°Brix) mit einem digitalen Refraktometer (PR-101, Atago, Tokio, Japan).

Zur einfacheren Ergebnisdarstellung wurden für folgende Parameter Kategorien festgelegt:

Fruchtgröße/Fruchtgewicht: sehr klein <60 g, klein 60 bis 100 g, mittelgroß 100 bis 150 g, groß 150 bis 200 g, sehr groß >200 g

Fruchtform: breit bei FFI < 0,9; kugelig bei FFI = 0,9 bis 1,1; hoch bei FFI >1,1

Die Pflückreife orientierte sich an folgenden Sorten: 'Weißer Klarapfel' - sehr früh (ab Mitte Juli), 'Discovery' - früh (ab Mitte August), 'Cox Orange' - mittel (ab September), 'Kronprinz Rudolf' - spät (ab Oktober), 'Rheinischer Bohnapfel' - sehr spät (ab Mitte/Ende Oktober)

Lagerfähigkeit im Naturlager bei ca. 10 bis 15 °C: kurz = weniger als eine Woche haltbar, mittel = bis 6 Wochen haltbar, lang = länger als 6 Wochen haltbar

Samen: Beurteilung zur Eignung einer Sorte als Pollenspender: guter Pollenspender (P+) bei zahlreichen und gut ausgebildeten Kernen, schlechter Pollenspender (P-) bei wenigen und vorwiegend schlecht ausgebildeten Kernen, unklar (P+/-) bei mittelvielen und teils schlechtausgebildeten Kernen

Die Sortenbestimmung erfolgte aufgrund von Erfahrungswissen der Autoren und wurde unterstützt durch Vergleich mit Fruchtproben aus den Genbanken der BOKU und der HBLA für Wein- und Obstbau Klosterneuburg bzw. mit Abbildungen der Sortenbeschreibungen in der pomologischen Literatur (Bernkopf, 2011; Bernkopf et al., 2013; Engelbrecht, 1889; Fischer, 1995; Friedrich und Petzold, 1993; Götz und Silbereisen, 1989; Hartmann und Fritz, 2011; Löschnig et al., o. J.; Petzold, 1990; Stoll, 1884). Zudem wurden in ergänzender Literatur (Pro Specie Rara, 2013; Arche Noah, o.J.) Hinweise zur Höhentauglichkeit der im Projektgebiet aufgefundenen Obstsorten recherchiert und in Tabelle 4 und 5 unter Angabe "für Höhenlagen empfohlen" (H+) sowie Anmerkungen zu weiteren Sorteneigenschaften (Wuchs, Frostfestigkeit, Krankheits- oder Schädlingsanfälligkeit) ergänzend angeführt.

Ergebnisse und Diskussion

Klima im Projektgebiet

Die durchschnittliche Lufttemperatur der letzten zehn Jahre (Tab. 1) war im Vergleich zum langjährigen Durchschnittswert der Jahre 1981 bis 2010 um ca. ein Grad höher.

Tab. 1: Klimadaten Mariazell 2010 bis 2019 (ZAMG, 2020)

	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	Durchschnitt 2010-2019
Jahresmittel der Lufttemperatur in °C	5,6	7	6,9	6,7	8	7,7	7,2	7	7,8	7,8	7,17
Absolutes Jahresminimum der Temperatur in °C	-21,8	-17,2	-22,8	-17,1	-10,7	-14,8	-21,4	-17,6	-19,5	-24	-18,69
Jahressumme des Niederschlags in mm	1095	907	1189	1240	1158	873	1187	1278	1280	948	1115,5

2018 war generell ein gutes Obstjahr, daher konnten hier zahlreiche Fruchtproben aufgenommen und untersucht werden. Aufgrund von Alternanz und starker Spätfröste gab es im

Jahr 2019 nur wenig Obst. 2020 war wiederum ein guter Fruchtbehang, allerdings war das Wetter - ähnlich wie 2018 - niederschlagsreich, was Pilzkrankheiten begünstigte (Tab. 2).

Tab. 2: Klimadaten von Mariazell in den Projektjahren 2018 bis 2020 (ZAMG, 2020)

	April	Mai	Juni	Juli	August	Sept.	Oktober
Mittelwert der Lufttemperatur in °C - 2018	10,9	13,3	15	16,4	17,1	12,5	9,6
Mittelwert der Lufttemperatur in °C - 2019	6,8	8	18,9	17,2	17	11,7	8,6
Mittelwert der Lufttemperatur in °C - 2020	8,2	9,9	14,5	16,5	17,6	13,5	7,9
Absolutes Minimum der Lufttemperatur in °C - 2018	-2	2,6	6,3	3,4	4,7	-4	0,7
Absolutes Minimum der Lufttemperatur in °C - 2019	-3,6	-1,7	8,2	5,4	4,6	-1,2	-1,2
Absolutes Minimum der Lufttemperatur in °C - 2020	-0,6	4,7	9,6	10,5	10,5	3,5	2,3
Monatssumme der Niederschläge in mm - 2018	28	130	267	98	178	55	110
Monatssumme der Niederschläge in mm - 2019	37	118	81	89	44	75	56
Monatssumme der Niederschläge in mm - 2020	16	137	165	126	220	151	112

Obstarten und Apfelsorten im Untersuchungsgebiet

Bei allen untersuchten Standorten war der Baumbestand rund um den Hof angeordnet: im Hausgarten, auf Weiden, an Wegrändern und zum Teil auf nicht mehr bewirtschafteten Flächen. Der Zustand der Bäume war sehr unterschiedlich. Nur an wenigen Standorten wurden regelmäßig Schnittmaßnahmen zur Verjüngung oder Auslichtung durchgeführt, viele Bäume waren vergreist. Des Öfteren waren starke Schäden an den Bäumen zu verzeichnen, wie etwa Bruchäste oder Stammschäden mit Hohlräumen im Stamm. Häufig standen die Bäume zu eng, was meist - bedingt durch zu geringe Belichtung und Belüftung - zu kleinen Früchten oder starkem Schorfbefall führte. An manchen Bäumen, vor allem bei einigen leerstehenden Höfen, wo sich der Wald in den Obstgarten hinein ausgebreitet hatte, waren keine oder nur schlecht entwickelte Früchte zu finden. Laut Angaben der Besitzer dient die Ernte

der Obstgehölze in erster Linie der Selbstversorgung, je nach Sorte und Bedarf als Tafelobst zum Frischverzehr, zur Verarbeitung und Veredelung (Saft, Marmelade, Schnaps), nur selten wird das Obst in größeren Mengen weiterverkauft (z. B. an die Bio-Börse Pressobst bei einem Betrieb).

Insgesamt wurden 452 Bäume aufgenommen, gut zwei Drittel davon waren Apfelbäume. Daneben waren 20 % Birnen und 11 % Zwetschken (*Prunus domestica*) und Verwandte, wie Kriecherl (*Prunus insititia*) und Kirschpflaumen (*Prunus cerasifera*). Von den 312 untersuchten Apfelbäumen konnte bei über 60 % die Sorte bestimmt werden.

In den Gemeinden Annaberg und Gaming wurde mit jeweils über 100 Exemplaren die größte Zahl an Apfelbäumen aufgenommen. Der prozentuale Anteil der von uns pomologisch bestimmten Sorten lag im Schnitt zwischen knapp 50 bis 60 %, in der Gemeinde Annaberg sogar bei 82 % (Tab. 3).

Tab. 3: Anzahl aufgenommener und bestimmter Apfelbäume in den einzelnen Gemeinden

Gemeinde	aufgenommen	Sorte sicher		Anzahl nach Häufigkeit der Sorten		
	Anzahl	Anzahl	%	sehr häufig	häufig	selten
Annaberg	109	89	82	36	35	18
Gaming	101	47	47	29	16	2
St. Anton	41	20	49	4	13	3
Puchenstuben	41	21	51	10	7	4
Mitterbach	20	12	60	5	3	4

Unter den sieben Apfelsorten, die sehr häufig (>8x) vorkamen, waren hauptsächlich weithin bekannte und überregional verbreitete Sorten wie 'Weißer Klarapfel', 'Transparent aus Croncels', 'Berner Rosenapfel', 'Schöner von Boskoop', 'Rheinischer Bohnapfel' und 'Brünnerling' zu finden und außerdem 'Annaberger Maschanzker', eine Lokalsorte. Diese Sorte scheint besonders an die lokalen Bedingungen angepasst zu sein, denn ein auf einem Hof vorhandenes Foto eines jetzt noch vorhandenen

Baumes aus dem Jahr 1880 belegt, dass dieser Baum mindestens 150 Jahre alt ist (Abb. 3), was ein beachtliches Alter für einen Apfelbaum in diesem nicht ganz optimalen Klimagebiet darstellt.

Weitere 22 Sorten konnten mehrmals (>2x), 33 nur selten (= 1 bis 2x) vorgefunden werden (Abb. 2). Das geschätzte Alter der meisten Bäume lag zwischen 50 und etwa 80 Jahren, bei einigen Einzelbäumen wie schon oben erwähnt auch höher.

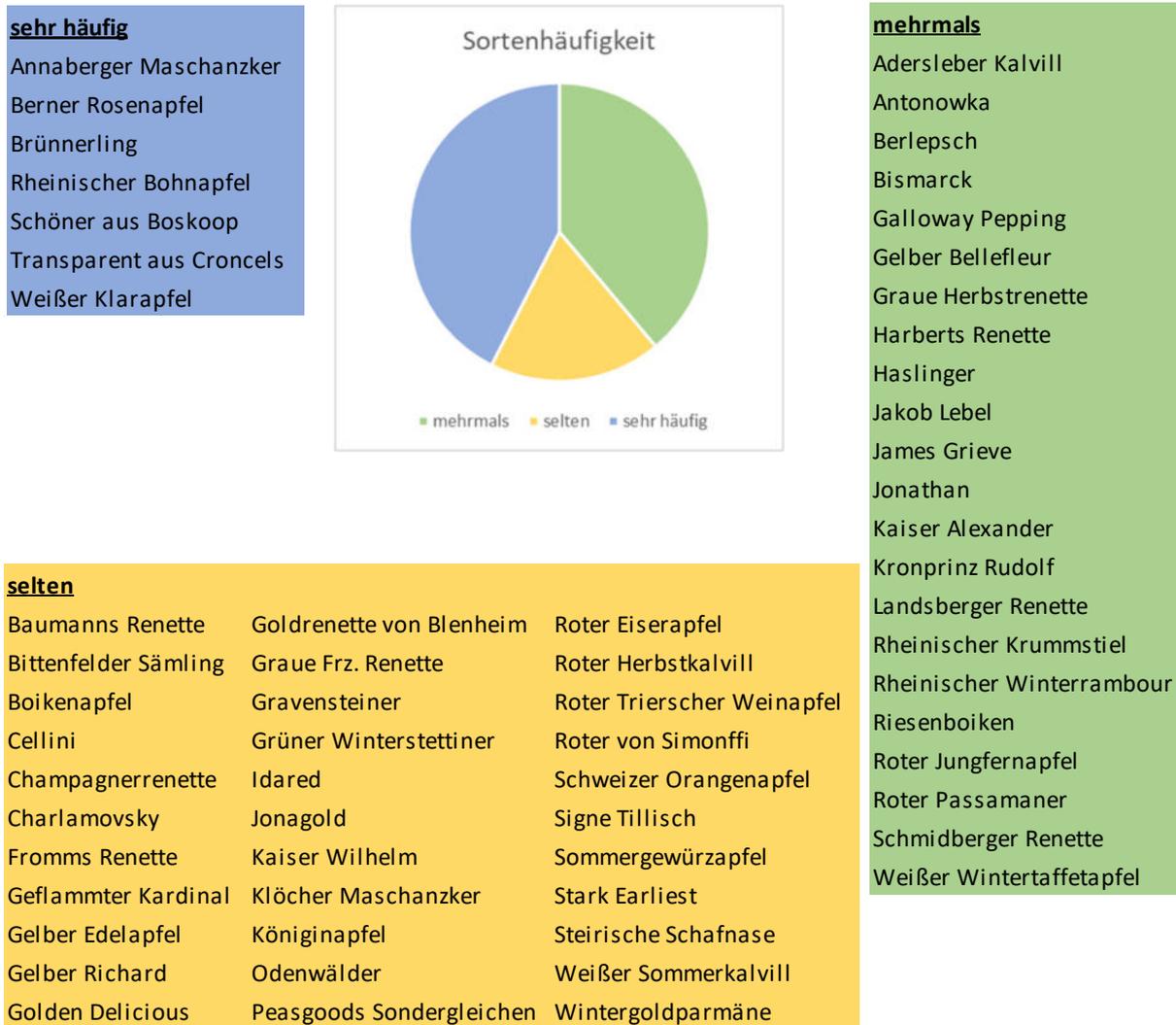


Abb. 2: Häufigkeit der im Aufnahmegebiet vorgefundenen Apfelsorten (sehr häufig >8x, mehrmals >2x, selten = 1 bis 2x)

Sehr häufig und mehrmals gefundene bzw. regionstypische Apfelsorten

In Tabelle 4 und 5 sind erhobene Fruchtparameter und Sorteneigenschaften der sehr häufig und mehrmals vorgefundenen Apfelsorten näher dargestellt. Das Spektrum umfasst 29 Sorten mit sehr kleinen ('Annaberger Maschanzker') bis sehr großen Früchten ('Antonowka', 'Rheinischer Winterrambour'), unterschiedlicher Pflückreife sowie Lagerfähigkeit und ermöglicht bei entsprechender Sortenwahl eine lange Nutzungsdauer unterschiedlicher Geschmacks- und Verwendungseigenschaften. Als früh reifende Sorten wurden

'Weißer Klarapfel' sehr häufig und 'Antonowka' mehrmals vorgefunden. Sie sind als robust gegen Frost (Blüte und Holz) bekannt, 'Antonowka' ist außerdem gegen Schorf resistent und wird aufgrund seiner allgemeinen Robustheit als Veredlungsunterlage besonders für Höhenlagen empfohlen (Arche Noah, o.J.; Pro Specie Rara, 2013; Hildebrandt und Maurer, 2011; Spornberger und Filipp, 2011). Mit den sehr spät reifenden und gut lagerfähigen Sorten 'Rheinischer Bohnapfel', 'Brünnerling' und 'Haslinger' ist eine lange Nutzungsdauer abgedeckt.

Mehr als die Hälfte (18) der sehr häufig und mehrmals gefundenen Sorten gelten nach Literaturangaben (Bernkopf, 2011; Bernkopf et al., 2013; Hartmann und Fritz, 2011; Petzold, 1990; Pro Specie Rara, 2013; Arche Noah, o.J.) als empfehlenswert für Höhenlagen. Nach eigenen Beobachtungen sind auch die meisten anderen angeführten Sorten dafür geeignet. Die Frostfestigkeit von Holz und Blüte sowie die Widerstandsfähigkeit gegenüber Pilzkrankheiten - vor allem Schorf (*Venturia inaequalis*) ist aufgrund der hohen Niederschlagsmengen in der Region problematisch - sind bei vielen gegeben. Als gefährdet für Blütenfröste sind die Sorten 'Schöner von Boskoop' und 'Weisser Wintertaffetapfel' zu nennen (Bernkopf et al., 2013). An den bekanntlich für Schorf anfälligen Sorten 'Transparent aus Croncels', 'Berner Rosenapfel' und 'Gelber Bellefleur' (Bernkopf et al., 2013; Hartmann und Fritz, 2011; Spornberger und Philipp, 2011) wurde auch von uns zum Teil starker Befall beobachtet. 'Gelber Bellefleur' stellt außerdem hohe Ansprüche an den Standort und bevorzugt warme Lagen (Hartmann und Fritz, 2011; Petzold, 1990). Die an

durchaus mächtigen Bäumen vorgefundenen Früchte dieser Sorte waren meist klein, stark schorfig und deformiert; die Sorte benötigt mehr Pflege und ist für den extensiven Hochlagen-Anbau ungeeignet.

Unter Berücksichtigung der jeweiligen Sorteneigenschaften und des Mikroklimas des geplanten Standortes, das stark von der Exposition (Hangneigung, Ausrichtung, Bodeneigenschaften und Bewuchs) des Standortes abhängt (Brand, 2008), können auch bei pilzanfälligen und etwas anspruchsvolleren Sorten ohne direkten Pflanzenschutz gute Fruchtqualitäten erreicht werden, dies konnten auch wir im Untersuchungszeitraum 2018 bis 2020 beobachten.

Aufgrund der Untersuchungen der Samen - viele hatten schlecht ausgebildete Samen und sind daher triploid ($n = 51$: z. B. 'Schöner von Boskoop', 'Rhein. Bohnapfel', 'Rhein. Winterrambour', 'Haslinger', 'Harberts Renette', 'Jakob Lebel') (Petzold, 1990) - ist nur etwa die Hälfte der Sorten als Pollenspender geeignet.

Tab. 4: Fruchtparameter und Sorteneigenschaften der sehr häufig im Gebiet vorgefundenen Sorten

Sortenname	Fruchtgröße	Fruchtform	°Brix	Pflückreife	Lagerfähigkeit	Nutzung/Eignung	Anmerkungen ¹
Annaberger Maschanzker	sehr klein	breit	12,6	mittel	mittel	T, W, M	robuster Herbstapfel, Baum gesund und langlebig, P+
Berner Rosenapfel	mittelgroß	kugelig bis hoch		mittel	mittel	T, W	sehr frosthart, sehr schorfanfällig; P+; H+
Brünnerling	mittelgroß	breit	16,0	spät	lang	T, W	etwas schorf- und krebsanfällig; geringe Ansprüche an den Boden; P-; H+
Rheinischer Bohnapfel	mittelgroß	kugelig bis hoch		sehr spät	lang	(T), W	starkwüchsig und langlebig, robust und widerstandsfähig, etwas schorfanfällig; P-; H+
Schöner aus Boskoop	mittelgroß bis groß	breit	14,8	mittelspät	mittel	T, W, M	stark wachsend, anfällig für Blütenfrost, Kernhaus- und Fleischbräune, mäßig schorf-, etwas stippeanfällig; P-
Transparent aus Croncels	mittelgroß	kugelig bis hoch		mittel	kurz	T, W	regelmäßige, gute Erträge, kaum lagerfähig, sehr schorfanfällig, P+; H+
Weißer Klarapfel	klein bis mittelgroß	breit	10,7	sehr früh	kurz	W	reichtragend, frosthart (Blüte und Holz), anfällig für Mehltau, Krebs und Blutlaus; P+; H+

T = Tafelobst, M = Mostobst, W = Wirtschaftsobst; H+ = in Literatur für Höhenlagen empfohlen

P- = schlechter Pollenspender, P+ = guter Pollenspender; P+/- = unklar

¹ teilweise ergänzt durch Literatur

Tab. 5: Fruchtparameter und Sorteneigenschaften der mehrmals im Gebiet vorgefundenen Sorten

Sortenname	Fruchtgröße	Fruchtform	°Brix	Pflückreife	Lagerfähigkeit	Nutzung/Eignung	Anmerkungen ¹
Adersleber Kalvill	mittelgroß	breit		mittel bis spät	mittel	T	robust, frosthart, ertragreich, mäßig schorfanfällig; P+; H+
Antonowka	groß bis sehr groß	kugelig	12,4	sehr früh bis früh	kurz	T, W	sehr widerstandsfähig (schorfresistent!), frosthart, bringt robuste Sämlinge als Veredlungsunterlage; P+; H+
Berlepsch	klein bis mittelgroß	breit	14,0	mittel bis spät	mittel	T, M	hohe Ansprüche an Boden und Klima (in kühleren Lagen an geschütztem Standort), anfällig für Krebs (schwere Böden), Schorf und Blutlaus; P+
Bismarck	mittelgroß bis groß	breit	12,0	spät	mittel	T, W, M	frostfestes Holz, anfällig für Mehltau und Schorf, regelmäßige Erträge; P-
Galloway Pepping	mittelgroß	breit		mittel bis spät	lang	T, W, M	sehr widerstandsfähig und schorffest, trägt regelmäßig und sicher; P-; H+
Gelber Bellefleur	klein bis mittelgroß	hoch		spät	mittel	T	widerstandsfähig gegenüber Blüten- und Winterfrost, aber bevorzugt warme Lagen, anfällig für Mehltau und Schorf; P-
Graue Herbstrenette	mittelgroß	breit	14,0	mittel	mittel	T, W	robust und ertragreich, krebsanfällig auf schweren Böden, Früchte schrumpfen im Lager (begrenzte Haltbarkeit); P-; H+
Harberts Renette	mittelgroß	breit	12,9	mittel	mittel	T, W	starker Wuchs, robust, regelmäßige und hohe Erträge, für Streuobstbau geeignet; P-; H+
Haslinger	groß	breit	12,6	spät bis sehr spät	lang	W, M	sehr robust, hohe Erträge, P-; H+
Jakob Lebel	mittelgroß	breit		mittel bis spät	mittel	T, W, D	starkwüchsig, anfällig für Krebs, Schorf und Stippe; P-; H+
James Grieve	mittelgroß	kugelig		früh bis mittel	kurz	T	regelmäßige und hohe Erträge, anfällig für Krebs, Monilia und Feuerbrand; P+; H+
Jonathan	mittelgroß	kugelig		spät	lang	T	bei ungünstigen, zu wenig warmen Lagen leidet das Aroma, wenig schorf-, aber stark feuerbrand- und mehltauanfällig; P+
Kaiser Alexander	groß bis sehr groß	breit	12,6	mittel	mittel	T, W	widerstandsfähig gegenüber Blüten- und Winterfrost, anspruchslos; P-; H+
Kronprinz Rudolf	klein bis mittelgroß	breit	12,7	spät	lang	T, W	verlangt guten kräftigen Boden und freie Lagen, geeignet auch für rauere Lagen, anfällig für Schorf; P+
Landsberger Renette	mittelgroß	breit bis kugelig		mittel bis spät	mittel	T, W, M	in ungünstigen Lagen anfällig für Schorf, Mehltau und Krebs, sonst gesund und widerstandsfähig; P+; H+
Rheinischer Krummstiel	mittelgroß	kugelig		spät	lang	T, W	regelmäßige und hohe Erträge, Holz und Blüte frosthart, braucht regelmäßig feuchte Böden in warmen Lagen; P-
Rheinischer Winterrambour	groß bis sehr groß	breit	10,8	spät	mittel-lang	W	starkwüchsig, robust und langlebig, anfällig für Mehltau und Krebs; P-
Riesenboiken	sehr groß	breit	13,3	spät	lang	T,W,M	widerstandsfähig und wenig anspruchsvoll; P-; H+
Roter Jungfernapfel (Spitzerl)	klein	kugelig bis hoch	12,7	spät	lang	W	wenig anfällig für Schorf, Mehltau und Krebs; P+, H+
Roter Passamaner	mittelgroß	breit	13,7	früh bis mittel	kurz-mittel	T, W	gute Erträge, mäßig anfällig für Schorf, sehr alte Bäume vorhanden, dürfte für Höhenlagen geeignet sein; P+/-
Schmidberger Renette	mittelgroß	breit bis kugelig		spät	lang	T, W	frosthart, sehr gesund, etwas mehltauanfällig; P+; H+
Weißer Wintertaffelapfel	klein	breit		spät	lang	T, W, D	etwas frostgefährdet (Blüte), nur mäßige Ansprüche an Boden und Lage, anfällig für Schorf und Krebs; P+/-

T = Tafelobst, M = Mostobst, W = Wirtschaftsobst; H+ = in Literatur für Höhenlagen empfohlen

P- = schlechter Pollenspender, P+ = guter Pollenspender, P+/- = unklar

¹teilweise ergänzt durch Literatur

Außerdem wurden 10 Zufallssämlinge entlang der B20 von Lassingtal/Kobichl bis Mitterbach untersucht und beschrieben, von denen anzunehmen ist, dass sie sich aus Kernen von weggeworfenen "Apfelbutzen" entwickelt haben (Tab. 6). Etwa die Hälfte davon war aus obstbaulicher Sicht uninteressant. Die Früchte waren im Aussehen zwar oft ansprechend, aber geschmacklich entweder einseitig süß oder sauer oder sehr

herb. Drei der Sämlinge (Nr. 26, Nr. 28 und Nr. 29) könnten für die Verarbeitung (Most, Saft) interessant sein. Die Sämlinge 'Gelber Herbstapfel' (AB) und 'Sämling Friedenstein' (AB) verdienen es, vermehrt zu werden, da sie sich aufgrund ihrer Baumgesundheit und positiver Fruchteigenschaften als potenzielle Regionalsorten in Zukunft etablieren könnten.

Tab. 6: Kurzbeschreibung der untersuchten Apfelsämlinge entlang der B20 von Lassingtal/Kobichl bis Mitterbach

Arbeitsbezeichnung (AB)	Fruchteigenschaften
Gravensteiner Sämling	attraktiv, erfrischend, saftig, zitroniger Geschmack, schorfanfällig
Gelber Herbstapfel	aromatisch, erfrischender und robuster Herbstapfel
Süßapfel aus Wienerbruck	fest, mürbe, einseitig süß, Säure fehlt
Sämling Schernfeld	wenig aromatisch, vorwiegend süß, schorfanfällig
Sämling Friedenstein	attraktiver, aromatischer und gesunder Tafelapfel
Sämling Nr. 25	ohne Aroma, Süße oder Säure
Sämling Nr. 26	sehr sauer, eventuell zum Kochen
Sämling Nr. 27	vorwiegend süß, fad, fest, klein
Sämling Nr. 28	kleine, harmonisch schmeckende Früchte, gut lagerfähig; ev. für Saft
Sämling Nr. 29	klein, sauer, herb; ev. als Mostapfel geeignet

Kurzportraits besonders interessanter Sorten/Sämlinge

Der 'Annaberger Maschanzker' gehört zu den sehr häufig gefundenen Sorten und wird von den Besitzern oft fälschlicherweise 'Steirischer Maschanzker' benannt. Die Herkunft der Sorte ist unbekannt, sie wurde erstmals im Rahmen einer

Sortenvielfaltserhebung im Mostviertel beschrieben (Handlechner und Schmidthaler, 2019) und ist demnach in der Region Mostviertler Alpen, im Pielachtal, Triestingtal und Reinsberg zu finden und wird auch 'Tradigister Maschanzker' genannt. Nach unseren Erhebungen existiert die Sorte seit mindestens über 150 Jahren, was eine Fotodokumentation eines noch vorhandenen Baumes am Hof "An der Gassen" aus dem Jahr 1880 belegt (Abb. 3).



Abb. 3: Baum 'Annaberger Maschanzker', Hof "An der Gassen"; links ca. 1880, rechts derselbe Baum September 2018

Die Bäume erreichen demnach ein sehr hohes Alter und sind noch immer reichtragend. Die Früchte sind klein, sehr schmackhaft und gut gewürzt und werden vorwiegend als

Wirtschaftsobst (Saft) genutzt. Die Sorte entwickelt häufig außergewöhnliche Fruchtformen (Abb. 4).



Abb. 4: 'Annaberger Maschanzker' (September 2018); links: Früchte mit zusätzlichem Blatt neben dem Stiel, rechts: "Zwillingsfrüchte"

Der von uns als 'Gelber Herbstapfel' (AB) bezeichnete Zufallssämling wurde neben der Straße bei Wienerbruck aufgefunden und ist ein mittelgroßer (Einzelfruchtgewicht: 105,4 g), kugelig bis länglich gebauter (FFI: 0,92), gelb ausgefärbter Herbstapfel (Abb. 5 links). Eine Abstammung vom 'Klarapfel' ist möglich, er reift jedoch deutlich später (mittlere Pflückreife) und ist mit einer Lagerfähigkeit bis Dezember wesentlich besser haltbar als dieser. Die aromatischen Früchte sind saftig, schmecken erfrischend und sind ähnlich dem Klarapfel zitronig gewürzt (13,6 °Brix). Baum und Frucht sind sehr gesund und wiesen auch im sehr feuchten Jahr 2020 keinen Schorf auf).

Der bei Mitterbach vorgefundene 'Sämling Friedenstein' (AB) (Abb. 5 rechts) ist mit seiner leuchtend roten bis dunkelroten Deckfarbe und flach-kugelig bis kugelig-konischen Fruchtform (FFI = 0,71) sehr attraktiv. Die Früchte waren 2020 ebenfalls ohne Schorf, sind von mittlerer Größe (Einzelfruchtgewicht: 105,4 g) und duften sehr angenehm. Die Frucht ist etwas mürbe im Biss mit einem angenehmen, harmonisch säurebetonten Geschmack und fruchtiger, zitroniger, leicht parfümierter Würze (13,3 °Brix). Der fein-aromatische Tafelapfel besitzt eine mittlere Pflückreife und ist bis Dezember lagerbar.



Abb. 5: links: 'Gelber Herbstapfel' (AB), Fundort "Auf der Au", Moos Lassingrotte, Annaberg (6. September 2018); rechts: 'Sämling Friedenstein' (AB), Fundort B20 bei Friedenstein-Mitterbach (19. Oktober 2020)

Hochlagenobst

Aufgrund der Schneemengen und der höheren Frostgefahr sind Baumformen mit hohem Astansatz (Hochstämme) für den Anbau in Höhenlagen besser geeignet und eher zu empfehlen als niedrige Baumformen, da die Temperaturen nahe dem Boden bei Frostereignissen meist niedriger sind als darüber. Dieser Unterschied kann in einem Jahr mit Spätfrost über einen möglichen Ertrag entscheiden. Außerdem gelangen Wildtiere bei einer hohen Schneedecke im Winter höher hinauf und können so bei niedrigen Stammformen Verbiss- und Fegeschäden in den Kronen verursachen. Bei Jungbäumen muss der Baumschutz den zu erwartenden Schneehöhen angepasst werden (Burmeister et al., 2014). Um Schneebruch zu vermeiden, sollte schon in der Erziehungsphase des Jungbaumes ein optimaler Ansatzwinkel durch Abspreizen und Aufbinden der Leitäste erzielt werden. Diese sollten nicht zu flach stehen, um den Schneemassen wenig Auflagefläche zu geben und die allgemeine Statik des Baumes zu verbessern. Ein Steigungswinkel von 43° ist anzustreben, der in Folge durch den zunehmenden Fruchtbehang auf 45° sinkt. Dadurch wirkt die Kraft auf den Astansatz und nicht auf die Leitastmitte (Burmeister et al., 2014).

Aufgrund unserer Beobachtungen und abgestimmt und ergänzt mit Literatur haben wir den Begriff "Hochlagenobst" für unser Projektgebiet folgendermaßen definiert:

"Obstarten und -sorten, die auf Grund ihrer Vitalität und ihrer Robustheit - im speziellen gegenüber Frost und Krankheiten - sowie einer angepassten Reifezeit unter den in Hochlagen vorherrschenden Bedingungen abseits begünstigter Obstlagen Tafel- und Wirtschaftsobst in über die Jahre zufriedenstellenden Ertragsmengen und Fruchtqualitäten liefern können. Hochlagen zeichnen sich in diesem Zusammenhang durch eine kurze Vegetationsperiode, tiefe Winter- und Durchschnittstemperaturen, schneereiche Winter sowie ein allgemein raueres Klima aus. Unsere Beobachtungen im Projektgebiet beziehen sich auf Höhenlagen von 600 bis knapp unter 1000 Meter über dem Meeresspiegel."

Zusammenfassung und Ausblick

Die gesamten Ergebnisse unserer dreijährigen Untersuchungen wurden in einem umfassenden Bericht für den Naturpark Ötscher-Tormäuer zusammengefasst und stellen eine wertvolle Grundlage für die schon laufenden Bemühungen zur Sortenerhaltung und -vermehrung interessanter und regionstypischer Obstgehölze im Gebiet rund um den Ötscher dar. Eine Vielzahl an Sorten konnte im Projektgebiet gefunden und bestimmt werden, weshalb dem Gebiet eine große Sortenvielfalt bescheinigt werden kann. Neben verschiedenen Geschmacks- und Verarbeitungsmöglichkeiten hat Sortenvielfalt auch eine wichtige Funktion, um gewisse Ausfallsrisiken durch Krankheiten, Schädlinge oder Frostschäden an Blüten, Knospen und jungen Früchten zu mindern und um gute Befruchtungsverhältnisse sicherzustellen.

Die mehrmals und sehr häufig vorgefundenen Apfelsorten finden in den hohen Lagen der Region geeignete Wachstums- und Entwicklungsverhältnisse vor und/oder haben sich angepasst und sind daher als höhentaugliche und regionstypische Sorten anzusehen.

Daneben konnten auch Sorten gefunden werden, die nur selten vorkommen, für die Region aber durchaus geeignet sein können. Vor diesem Hintergrund wurden erhaltens- und vermehrungswerte Sorten als Reiserschnittbäume gekennzeichnet. Zwei vielversprechende Zufallssämlinge und der sonst wenig bekannte 'Annaberger Maschanzker' wurden als besonders interessant befunden und hier genauer beschrieben.

Weiterhin wichtig ist es, die laufenden Angebote des Naturparks Ötscher-Tormäuer zu promoten, um gemeinsam mit dem Bewusstsein der Bevölkerung die vorhandene Obstvielfalt zu erhalten: z. B. regelmäßige Kurse für Schnitt von Jung- und Altbäumen, Veredelung, Baumpflege, Ernte und Verarbeitung. Denn nur wenn die Bäume genutzt werden, können sie auch erhalten bleiben.

Danksagung

Wir bedanken uns beim Naturpark Ötscher-Tormäuer für die Anregung und Finanzierung des Projektes und die gute Zusammenarbeit. Insbesondere gilt unser Dank Heribert Pfeffer für seine Initiative, sein Engagement und seine Begleitung

und tatkräftige Unterstützung bei den Probenahmen auf den Höfen. Dank gebührt auch Johannes Digruber von den Österreichischen Bundesforsten für Begleitung und digitale Kartierungshilfe an diesen Standorten. Ein Vergelt's Gott ergeht auch an die Besitzer der Höfe für die Ermöglichung von Baumsichtung und Probenahme in ihren Obstgärten und den einen oder anderen wertvollen Hinweis zu den untersuchten Sorten.

Literatur

Arche Noah (o.J.) Sortenmappe Verfügbare Obstsorten aus Niederösterreich, Schiltern (Amt der NÖ Landesregierung)

Bernkopf, S. 2011: Von Rosenäpfeln und Landbirnen. ÖO Publikationen, Trauner Verlag

Bernkopf, S., Keppel, H., Novak, R. 2013: Neue Alte Obstsorten; Äpfel, Birnen und Steinobst. Wien: Österreichischer Agrarverlag

Brand, S. 2008: Das Meso- und Mikroklima. Seminararbeit. Tübingen: Eberhard-Karls-Universität Tübingen

Burmeister, B., Grolm, M., Tetzl, G. 2014: Leitfaden für den hochstämmigen Obstbau. Weimar: Grüne Liga Thüringen e.V.

Dierent, W. 2009: Klimawandel und Obstbau. Erwerbs-Obstbau (2009) 51:79. Heidelberg: Springer-Verlag

Engelbrecht, T. 1889: Deutschlands Apfelsorten. Braunschweig: Vieweg und Sohn Verlag

Fischer, M. 1995: Farbatlas Obstsorten. Stuttgart: Ulmer-Verlag

Friedrich, G., Petzold, H. 1993: Obstsorten. Radebeul: Neumann-Verlag

Götz, G., Silbereisen, R. 1989: Obstsorten Atlas. Stuttgart: Ulmer-Verlag

Handlechner, G., Schmidthaler, M. 2019: Äpfel & Birnen – Schätze der Streuobstwiesen, LEADER Region Tourismusverband Moststraße

Hartmann, W., Fritz, E. 2011: Farbatlas Alte Obstsorten. Stuttgart: Ulmer Verlag

Hildebrandt, B., Maurer, K. 1948: Frostsicherer Obstbau – Reiche Ernte trotz harter Winter und klimatisch rauher Lagen. Hannover: Trowitzsch-Verlag

Inforama – Fachstelle für Obst und Beeren 2016: ABC für den erfolgreichen Liebhaberobstbau. 3. Überarbeitete Auflage. Eigenverlag.

Keppel, H., Pieber, K., Weiss, J. 2018: Obstbau Biologisch und integriert. Graz: Stocker Verlag

Kobel, F. 1954: Lehrbuch des Obstbaus auf physiologischer Grundlage. Berlin: Springer

Love, S., Fallahi, E., Noble, K. 2009: Growing tree fruits in short-season gardens. Idaho: University of Idaho.

Landesstatistik Steiermark 2021: Mariazell Klimadaten. Verfügbar unter: <https://www.landesentwicklung.steiermark.at> (abgerufen am: 01.04.2021).

Micheletti, S., Marigo, G., Pelosini, R. 2013: Alpine Meteorologie. Trento: AINEVA.

Löschnig, J., Müller, H.M., Pfeiffer, H. (o.j.): Empfehlenswerte Obstsorten. Wien: Scholle Verlag

Nö Atlas - Karten und Geoinformationen des Landes Niederösterreichs

atlas.noe.gv.at/webgisat-
las/(S(d0cmcgdc0gl23xntnvmll-
bgy))/init.aspx?karte=atlas_gst
(abgerufen Jänner 2019 und Dezember 2020)

Petzold, H. 1990: Apfelsorten. Leipzig: Neumann
Verlag

Pro Specie Rara 2013: Höhentaugliche Apfel-,
Birnen-, Kirschen- und Pflaumen- bzw. Zwetsch-
gensorten. [https://www.prospecierara.ch/filead-
min/user_upload/prospecierara.ch/Pflan-
zen/Obst/Obst_Sortenempfehlungen/prospe-
cierara_obstsorten_ho_henlage.pdf](https://www.prospecierara.ch/fileadmin/user_upload/prospecierara.ch/Pflanzen/Obst/Obst_Sortenempfehlungen/prospecierara_obstsorten_ho_henlage.pdf)
(04.10.2019).

Spornberger, A., Filipp, M. 2011: Bei Neuaus-
pflanzungen schorftolerante Sorten bevorzugen
– Anfälligkeiten von alten und neuen Sorten ge-
genüber Apfelschorf. Besseres Obst, Fachorgan
des Österreichischen Bundes-Obstbauverbandes
1: 4-7.

Stoll, R. 1884: Österreichisch-Ungarische Pomo-
logie. Klosterneuburg

**ZAMG – Zentralanstalt für Meteorologie und
Geodynamik** 2020: Klimamonitoring. Verfügbar
unter:
[https://www.zamg.ac.at/cms/de/klima/klima-
aktuell/klimamonitoring](https://www.zamg.ac.at/cms/de/klima/klima-aktuell/klimamonitoring) (abgerufen am
20.12.2020).

Eingelangt am 13. April 2021