

Authentizitätsbestimmung ausgewählter *Vaccinium*-Spezies mittels HPLC-MS

Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades (Dr.rer.nat.)

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

vorgelegt

von

Elvira Jungfer

aus

Nürnberg

Bonn 2013

Angefertigt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

1. Gutachter: Professor Dr. R. Galensa
2. Gutachter: Professor Dr. G. König

Tag der Promotion: 19.07.2013

Für meine Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

Zusammenfassung	I
Abstract.....	III
Publikationen.....	V
1 Einleitung	1
1.1 Botanik der <i>Vaccinium</i> -Spezies	1
1.1.1 Cranberry, Moosbeere und Preiselbeere	1
1.1.1.1 Amerikanische Cranberry.....	1
1.1.1.2 Moosbeere (Europäische Cranberry)	3
1.1.1.3 Preiselbeere	4
1.1.2 Heidelbeere und Blaubeere	5
1.1.2.1 Europäische Heidelbeere	5
1.1.2.2 Andenheidelbeere	6
1.1.2.3 Amerikanische Blaubeeren	7
1.2 Konsum, Produktion und Vermarktung der Cranberry	10
1.3 Verfälschung von Lebensmitteln und Authentizitätskontrolle anhand von Polyphenolprofilen	14
1.4 Phenolische Inhaltsstoffe der <i>Vaccinium</i> -Beeren.....	17
1.4.1 Anthocyane	17
1.4.2 Flavanele - kondensierte Proanthocyanidine	18
1.4.3 Flavonole	20
1.4.4 Phenolcarbonsäuren	20
1.4.5 Weitere ausgewählte Inhaltsstoffe	21
1.5 Gesundheitsfördernde Eigenschaften	23
1.5.1 Cranberrys.....	23
1.5.2 Blau- und Heidelbeeren	23
1.5.3 Prävention von Harnwegserkrankungen	24
1.5.3.1 Infektionen des Urogenitaltraktes	24
1.5.3.2 Wirkprinzip der Cranberry - bioaktive Inhaltsstoffe (Procyanidine) und deren Bioverfügbarkeit	25
2 Ergebnisse und Diskussion.....	29
2.1 Unterscheidung verschiedener <i>Vaccinium</i> -Spezies und Bestimmung der Authentizität anhand von Polyphenolprofilen	29
2.2 Analytik von Polyphenolen	30
2.2.1 Probenvorbereitung	30

2.2.1.1	Extraktion mit automatisierter beschleunigter Lösungsmittlextraktion	30
2.2.1.2	Aufreinigung und Anreicherung von Polyphenolen mittels automatisierter Festphasenextraktion	32
2.2.1.3	Zuordnung und Quantifizierung der Polyphenole mittels LC-MS...	37
2.2.1.4	Bestimmung des Gesamtproanthocyanidingehalts mittels DMAC-Assay	40
2.3	Authentizitätsbestimmung von Cranberry, Moosbeere und Preiselbeere	41
2.3.1	Proanthocyanidine: Cranberry, Moosbeere und Preiselbeere	41
2.3.1.1	Bedeutung der A-Typ-Procyanidine und Vergleich der <i>Vaccinium</i> -Beeren in Hinblick auf gesundheitsbezogene Eigenschaften	41
2.3.1.2	Proanthocyanidinprofile von Cranberry, Moosbeere und Preiselbeere	43
2.3.1.3	Quantifizierung der Procyanidine	53
2.3.1.3.1	Quantifizierung von A-Typ-Dimeren und –Trimeren mittels UHPLC-MS	54
2.3.1.3.2	Gesamtprocyanidingehalt mittels DMAC-Assay	58
2.3.1.3.3	Quantifizierung der Flavan-3-ole und B-Typ-Procyanidine mittels UHPLC-MS	60
2.3.2	Anthocyane: Profile und Quantifizierung	64
2.3.3	Flavonolprofile von Cranberry, Moosbeere und Preiselbeere	70
2.3.4	Profile der Phenolcarbonsäuren und der Cumaroyliridoidglykoside	76
2.4	Authentizitätsbestimmung von Heidelbeere und Blaubeere	83
2.4.1	Proanthocyanidinprofile von Heidelbeere und Blaubeere	84
2.4.2	Anthocyane: Heidelbeere und Blaubeere	89
2.4.2.1	Anthocyanprofile	89
2.4.2.2	Anthocyankonzentrationen	93
2.4.3	Flavonolprofile von Heidelbeeren und Blaubeeren	96
2.4.4	Profile der Phenolcarbonsäuren und Cumaroyliridoidglykoside von Heidelbeeren und Blaubeeren	106
2.5	Prüfung der Authentizität verschiedener Cranberryprodukte aus dem Handel	114
3	Material und Methoden	118
3.1	Chemikalien	118
3.2	Probenmaterial	119
3.3	Probenvorbereitung	121
3.3.1	Extraktion verschiedener Polyphenole aus den Beeren	121

3.3.1.1 Flavonole, Phenolcarbonsäuren, Cumaroyliridoidglykoside und Proanthocyanidine	121
3.3.1.2 Anthocyane	121
3.3.2 Automatisierte Festphasenextraktion von Beeren und Beerensäften	122
3.4 Geräte und Analysenmethoden	123
3.4.1 Identifizierung und Quantifizierung der Polyphenole mittels HPLC-UVDAD- MS ⁿ	123
3.4.2 Identifizierung von Flavonolen, Phenolcarbonsäuren, Cumaroyliridoidglykosiden und Proanthocyanidinen	123
3.4.3 Identifizierung und Quantifizierung der Anthocyane	125
3.4.4 Quantifizierung von Procyanidinen mittels UHPLC-Quadrupole-MS	126
3.4.5 Gesamtprocyanidingehalt mittels DMAC-Assay	128
A Anhang	130
A.1 Übersicht Cranberrysorten	130
A.2 Test verschiedener HPLC-Säulen	133
A.3 Massenspuren verschiedener Proanthocyanidine	137
A.4 Massenspektrometrische Daten: Flavonole	153
A.5 Massenspuren der Anthocyane in Cranberry und Moosbeere	157
A.6 Gerichtsurteil zur Cranberry	158
A.7 Liste der untersuchten Handelsproben	162
A.8 Massenspuren Fruchtsäfte	177
Literaturverzeichnis	178
Abkürzungsverzeichnis	192
Abbildungsverzeichnis	194
Tabellenverzeichnis	198

ZUSAMMENFASSUNG

Ziel dieser Arbeit war es, die Polyphenolprofile ausgewählter Beeren der Spezies *Vaccinium* zu charakterisieren, anhand dessen deren Authentizität zu bestimmen und dadurch mögliche Verfälschungen von Produkten zu erkennen. Insbesondere standen die Unterscheidungen von Cranberry, Moosbeere und Preiselbeere im Fokus dieser Arbeit, aber auch Blaubeeren und Heidelbeeren wurden untersucht. Teilweise wurde das Projekt mit Drittmitteln aus der Industrie unterstützt.

Für diesen Zweck wurden unterschiedliche phenolische Inhaltsstoffe wie Anthocyane, Proanthocyanidine, Flavonole, Phenolcarbonsäuren und deren Derivate sowie Cumaroyliridoidglykoside berücksichtigt. Dabei wurden verschiedene Analysemethoden herangezogen und optimiert, um die einzelnen Substanzgruppen in einer komplexen Matrix zu erfassen und auch zum Teil zu quantifizieren. Zur Analytik wurden die beschleunigte Lösungsmittelextraktion, automatisierte Festphasenextraktion und Hochleistungsflüssigkeitschromatographie, gekoppelt mit einem Diodenarray-Detektor und einem Massenspektrometer (HPLC-UVDAD-MSⁿ), eingesetzt.

Da Cranberrys unter anderem wegen ihrer potentiellen präventiven Wirkung gegen Harnwegserkrankungen konsumiert werden, spielt die Authentizität solcher Produkte nicht nur wirtschaftlich, sondern auch hinsichtlich der Gesundheit eine entscheidende Rolle. Die französische Behörde für Lebensmittelsicherheit (AFFSA) hat hierzu einen Health Claim genehmigt, der besagt, dass ausschließlich der Verzehr von nordamerikanischen Cranberrys (*V. macrocarpon*) die Anheftung von *E.coli* im Harntrakt verhindert. Als wirksame Inhaltsstoffe werden hierbei die A-Typ-verknüpften Procyanidine der Cranberry diskutiert.

In der vorliegenden Arbeit wurde ein Unterschied in den Profilen der A-Typ-verknüpften Procyanidine, insbesondere der Trimere, festgestellt. Hierbei wurde zunächst gezeigt, dass Moosbeeren im Vergleich zu Cranberrys und Preiselbeeren eine geringere Anzahl an Isomeren der A-Typ-verknüpften Trimere aufweisen. In Preiselbeeren wurde die größte Anzahl an Isomeren detektiert, jedoch ist ihr Profil anders als das der Cranberrys. Zwischen den drei Beeren wurde nicht nur ein qualitativer, sondern auch ein quantitativer Unterschied bezüglich der A-Typ-verknüpften Trimere und A2 bestimmt. Da Moosbeeren die geringsten Konzentrationen und Preiselbeeren ein anderes Profil im Vergleich zu Cranberrys aufweisen, kann eine präventive Wirkung dieser beiden Spezies gegen Harnwegserkrankungen in Frage gestellt werden.

Die Ergebnisse wurden durch die Analyse von vier verschiedenen Cranberrysorten, vier Jahrgängen (2009-2012) und mehreren Standorten (USA, PL, und CA) sowie zwei Moosbeeren mit unterschiedlichen Jahrgängen (2009 und 2010) und Standorten (EU, PL) und zwei Preiselbeeren verschiedener Herkunft (EU und CN) bestätigt. Zusätzlich konnte anhand der Untersuchung von 77 verschiedenen Handelsprodukten gezeigt werden, dass die Profile der A-Typ-verknüpften Trimere als ein Unterscheidungsmerkmal geeignet sind, um die Authentizität von Cranberrys in Produkten mit unterschiedlicher Matrix und unterschiedlichem Verarbeitungsgrad zu bestimmen.

Neben den Profilen der Proanthocyanidin-Trimere kann Rutin zur Abgrenzung von Cranberrys zu Preiselbeeren und Moosbeeren herangezogen werden. Rutin ist als einziges in Cranberrys nicht enthalten. Weitere Unterschiede wurden auch in den Profilen der Phenolcarbonsäuren sowie der Anthocyane gefunden.

Zur Unterscheidung von Heidelbeeren und Blaubeeren (*V. corymbosum* und *V. angustifolium*) eignen sich möglicherweise Cumaroyliridoidglykoside. Die Untersuchungen zeigten aber ebenfalls Unterschiede bei den Proanthocyanidin-, Phenolcarbonsäure-, Flavonol- und Anthocyanprofilen.

Abschließend wurden in Andenheidelbeeren phenolische Verbindungen detektiert, die dieser Spezies bislang noch nicht zugeordnet werden konnten. Insgesamt wurden hier zehn weitere Proanthocyanidine, fünf Flavonole sowie Derivate von Ferulasäure, Kaffeesäure und Cumarsäure detektiert.

ABSTRACT

The aim of this work was to characterize the polyphenol profiles of selected *Vaccinium* berries in order to determine their authenticity and thereby to detect possible adulterations of products. In particular, the distinction of American cranberries, European cranberries and lingonberries was focused, but also blueberries and bilberries were investigated. In parts, this project was supported via third-party funds from the industry.

For this purpose, different phenolic compounds such as anthocyanins, proanthocyanidins, flavonols, phenolic acids and their derivatives as well as coumaroyl iridoide glycosides were taken into account. Analytical methods were optimized to detect the individual groups of phenolic compounds in a complex matrix and also to quantify some of them. Accelerated solvent extraction, automated solid phase extraction, and high performance liquid chromatography coupled with a diode array detector and a mass spectrometer (HPLC-UV/DAD-MSⁿ) were used for analysis.

As cranberries are especially consumed because of their potential preventive effect against urinary tract infections, the authenticity of such products is important in regard to both economical and health aspects. The French food safety authority (AFSSA) has permitted a health claim, which states that only the consumption of North American cranberries (*V. macrocarpon*) prevents the adhesion of *E. coli* in the urinary tract. In this context, the A-type cranberry proanthocyanidins are discussed as the effective compounds.

In the present study, differences in the profiles of A-type procyanidins, notably in trimers were observed. At first, it was shown that European cranberries have a smaller number of A-type trimer isomers compared to American cranberries and lingonberries. In lingonberries the largest number of isomers was detected, but its profile is different to that of American cranberries. Additionally, not only a qualitative, but also a quantitative difference regarding the A-type trimers and A₂ was evaluated between the three berries. The lower concentration of these A-type procyanidins in European cranberries and the different procyanidin profile of lingonberries in comparison to those of American cranberries raise reasonable doubts about a preventive effect of these two species against urinary tract infections.

The results were confirmed by analyzing American cranberries of four different varieties, from four crop years (2009-2012) and three locations (USA, PL, and CA), two European cranberries from different years (2009 and 2010) and locations (EU, PL) as well as two lingonberries from different locations (EU and CN). The profile of the A-type trimers was also shown to be a suitable parameter to determine the authenticity of cranberries in a total of 77 products of different matrices and processing states.

In addition to the profiles of procyanidin trimers, rutin can be used for the discrimination of American cranberries to European cranberries and lingonberries. Rutin is only absent in American cranberries. Furthermore, differences were found in the profiles of phenolic acids and anthocyanins.

To distinguish between bilberries and blueberries (*V. corymbosum* and *V. angustifolium*) coumaroyl iridoide glycosides may be suitable. However, the studies also showed differences in the profiles of proanthocyanidins, phenolic acids, flavonols and anthocyanins.

Finally, phenolic compounds were detected in Andean blueberries, which so far have not yet been assigned to this species. A total of ten further proanthocyanidins, five flavonols, and derivatives of ferulic acid, caffeic acid and coumaric acid were detected.

PUBLIKATIONEN

Zeitschriftenbeiträge

Jungfer, E., Zimmermann, B. F., Ruttkat, A., Galensa, R.

Comparing Procyanidins in selected *Vaccinium* species by UHPLC-MS² with regard to authenticity and health effects

Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60, 9688–9696

Rockenbach, I. I., **Jungfer, E.**, Ritter, C., Santiago-Schübel, B., Thiele, B., Fett, R., Galensa, R.

Characterization of flavan-3-ols in seeds of grape pomace by CE, HPLC-DAD-MSⁿ and LC-ESI-FTICR-MS

Food Research International, 2012, 48, 848-855.

Gordon, A., **Jungfer, E.**, da Silva, A.B., Maia, J.G.S., Marx, F.

Phenolic constituents and antioxidant capacity of four underutilized fruits from the Amazon region

Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59, 7688–7699.

Da Silva, B. A., Gordon, A., **Jungfer, E.**, Marx, F., Maia, J. G. S

Antioxidant capacity and phenolics of *Pouteria macrophylla*, an under-utilized fruit from Brazilian Amazon

European Journal of Food Research and Technology, 2012, 234, 761-768.

Ellinger, S., Gordon, A., Kürten, M., **Jungfer, E.**, Zimmermann, B., Zur, B., Ellinger, J., Marx, F., Stehle, P.

Bolus consumption of a specifically designed fruit juice rich in anthocyanins and ascorbic acid did not influence markers of antioxidative defense in healthy humans

Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2012, 60, 11292-11300.

Vortrag

Jungfer, E., Propson, R., Zimmermann, B., Galensa, R.

Authentizitätsprüfung von Cranberrys und deren Produkte anhand von Polyphenolprofilen

Regionaltagung NRW der Lebensmittelchemischen Gesellschaft, Münster, 06. März 2013

Poster

Jungfer, E., Galensa, R.

Polyphenolanalytik verschiedener *Vaccinium* Spezies - Unterscheidungsmöglichkeiten von Cranberry-, Moosbeer-, und Preiselbeersäften

Regionaltagung NRW der Lebensmittelchemischen Gesellschaft, Münster, 17. März 2010

Abstract: Lebensmittelchemie 64, 142 (2010)

Jungfer, E., Wollseifen, H.R., Zimmermann, B.F., Galensa, R.

Authentizitätsprüfung von Cranberry, Preiselbeere, und Moosbeere mittels Polyphenol-analytik

39. Deutscher Lebensmittelchemikertag, Stuttgart-Hohenheim, 20.-22. September 2010

Abstract: Lebensmittelchemie 65, 25 (2011)

Jungfer, E., Gordon, A., Galensa, R., Marx, F.

Polyphenolische Inhaltsstoffe der Jambolão (*Syzygium cuminii*)

Regionaltagung NRW der Lebensmittelchemischen Gesellschaft, Wuppertal, 23. März 2011

Abstract: Lebensmittelchemie 65, 140 (2011)

Rockenbach, I. I., **Jungfer, E.**, Ritter, C., Galensa, R., Fett, R.

Profiling of galloylated and non-galloylated flavan-3-ol compounds and investigation of the presence of catechin and epicatechin enantiomers in seeds of red grape (*Vitis vinifera* and *Vitis labrusca*) pomace from Brazilian winemaking

16th IUFoST World Congress of Food Science and Technology, Foz do Iguaçu, Parana State, Brazil, 5-9 August 2012

1 Einleitung

1.1 Botanik der *Vaccinium*-Spezies

Vaccinium-Spezies sind Sträucher der Familie der Heidekrautgewächse (Ericaceae). Zu dieser Gattung gehören etwa 450 verschiedene Arten, die vorwiegend in der nördlichen Hemisphäre und in Gebirgsregionen tropischer Teile Asiens und Südamerika angesiedelt sind. Hierbei sind 40% der *Vaccinium*-Spezies in Südostasien, 25% in Nordamerika sowie 10% in Süd- und Mittelamerika beheimatet. Die restlichen 25% verteilen sich über die ganze Welt. Die wichtigsten Vertreter sind in den Untergattungen *Cyanococcus*, *Vitis-idaea*, *Oxycoccus*, *Myrtillus* und *Vaccinium* zu finden (Song & Hancock, 2011).

Spekulationen zufolge stammt der Name *Vaccinium* vom lateinischen „vacca“ ab, was Kuh („cow“) bedeutet und im englischen Namen der Preiselbeere „cowberry“ steckt. Diesen Namen erhielt die Preiselbeere von Carl von Linné, dem schwedischen Botaniker und maßgeblichen Namensgeber von Pflanzen. Laut einer anderen Theorie, könnte sich der Name auch aus der europäischen prähistorischen Sprache „Thracopelagian“, einem Vorläufer des Griechischen, ableiten (Trehane, 2004).

Die Früchte der *Vaccinium*-Spezies, wie Cranberrys und Blaubeeren werden seit tausenden von Jahren gesammelt. Der erste Nachweis von Cranberrys geht bis ins Bronzezeitalter (2200 bis 800 v. Chr.) zurück. Hier wurden Cranberrys als Beigabe in einem Grab in Jütland, Dänemark, gefunden. Heute sind *Vaccinium*-Spezies weltweit bekannt und in zahlreichen Ländern von wirtschaftlichem Interesse (Trehane, 2004).

1.1.1 Cranberry, Moosbeere und Preiselbeere

1.1.1.1 Amerikanische Cranberry

In der Sektion *Oxycoccus* ist *Vaccinium macrocarpon* (Amerikanische Cranberry) eine der wichtigsten domestizierten Vertreter der *Vaccinium*-Spezies. Die Cranberry ist neben Blaubeeren und der Concord-Traube eine der wenigen einheimischen Früchte Nordamerikas (Song & Hancock, 2011). Sie ist dort nordöstlich in den Hochmooren beheimatet. *Vaccinium macrocarpon* ist ein immergrüner, mehrjähriger, bodendeckender Zwergstrauch. Er besitzt länglich-ovale grüne Blätter und trägt von Juni bis Anfang Juli weiß bis zart rosafarbene Blüten. Die Form der Blüte mit dem hervortretenden Griffel erinnert an einen Kranichschnabel, weshalb die Pilgrim-Väter ihr den Namen „Crane-berry“ (= Kranichbeere) gegeben haben. Aus den Blüten entstehen die leuchtend roten, mit einer wachsartigen Schicht überzogenen Beeren. Im inneren der Beeren befinden sich vier große Luftkammern in denen die Samen sind. Die Beeren reifen von September bis November (Bäumler, 2006). Je nach Sorte und Kultivierungsart haben die Früchte unterschiedliche Formen, wie rund, glockenförmig, spindelförmig oder olivenförmig (Trehane, 2004). In Nordamerika sind ungefähr 175 Sorten bekannt (Bäumler, 2006) (s. Tabelle 29, Anhang A.1).

Die Geschichte der Cranberry ist eng mit der der Indianer verbunden. Bereits 1550 konsumierten die amerikanischen Ureinwohner Cranberrys auf verschiedene Arten. Sie aßen die Beeren roh oder verarbeitet. Die wohl bekannteste Zubereitung ist *pemmican*, eine Mischung aus getrocknetem Fleisch und Cranberrys, das durch die Beeren eine lange Haltbarkeit erhielt und so über die Winter half. Im Jahr 1620, als die ersten Siedler – die Pilgrim-Väter - nach Nordamerika an die Küste von Cape Cod kamen, lernten sie durch die Indianer schon früh, wie Cranberrys geerntet und verarbeitet werden können. Auch ihren Einsatz als Heilpflanze, z.B. zur Behandlung von Blutvergiftungen, wussten sie zu schätzen. Seit 1621, als die Siedler zusammen mit den Ureinwohnern zum ersten Mal das noch heute bekannte Erntedankfest feierten, mit einem Mahl, bestehend aus Truthahn, Cranberrys, Kürbis und Maisbrot, sind Cranberrys in Amerika hochgeschätzt (Bäumler, 2006; Eck, 1990). 1683 begannen die Pilgrim-Väter Saft aus den Cranberrys herzustellen (Armstrong, o. D.).

In Europa wurde die Cranberry noch vor der ersten Besiedelung Amerikas durch die Pilgerväter im Jahr 1614 das erste Mal von Captain John Smith beschrieben. Er sprach von „red berries, called Kermes“. Im Jahre 1677 brachten dann die Pilgrim-Väter die ersten Cranberrys nach Europa an das englische Königshaus (Trehane, 2004; Caruso et al., 2000).

Spezies: *Vaccinium macrocarpon*

Subgenus: *Oxycoccus*

Synonyme

(National Germplasm Resources Laboratory, 2012)



Allgemeine Namen

Englisch: American cranberry, cranberry, large cranberry

Französisch: canneberge à gros fruits, ronce d'Amérique

Deutsch: große Moosbeere, Kranbeere

Spanisch: arándano Americano, arándano trepador

Schwedisch: amerikanskt tranbär

Botanische Namen:

· *Oxycoccus macrocarpos* (Aiton) Pers.

Fotos: Cranberry Marketing Committee

1.1.1.2 Moosbeere (Europäische Cranberry)

Zur Untergruppe *Oxycoccus* gehört neben der amerikanischen Cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) auch die sogenannte europäische Cranberry *Vaccinium oxycoccus*. Ihre deutsche Bezeichnung ist Moosbeere, sie wird aber ebenfalls oft nur als Cranberry bezeichnet, was die namentliche Unterscheidung der Beeren erschwert. *Vaccinium oxycoccus* ist in Europa, Nordamerika und Nordasien beheimatet (Song & Hancock, 2011). Sie ist hauptsächlich in feuchten und moosbewachsenen Mooregebieten oder kalkarmen Böden der niederen Gebirgsregionen Deutschlands, Russlands und Skandinaviens zu finden.

Spezies: *Vaccinium oxycoccus*

Subgenus: *Oxycoccus*

Synonyme

(National Germplasm Resources Laboratory, 2012)



Allgemeine Namen:

Englisch: cranberry, European cranberry, mossberry, small cranberry

Französisch: canneberge commune

Deutsch: Moosbeere

Japanisch: tsuru-kokemomo

Schwedisch: tranbär

Botanische Namen:

- *Oxycoccus hagerupii* Á. Löve & D. Löve
- *Oxycoccus microcarpus* Turcz. ex Rupr.
- *Oxycoccus oxycoccus* (L.) MacMill.
- *Oxycoccus palustris* Pers.
- *Oxycoccus quadripetalus* Gilib., nom. inval.
- *Vaccinium hagerupii* (Á. Löve & D. Löve) Ahokas
- *Vaccinium microcarpum* (Turcz. ex Rupr.) Schmalh.
- *Vaccinium palustre* Salisb.

Vaccinium oxycoccus ist ein immergrüner am Boden kriechender Strauch, der bis zu 80 cm lange dünne rötlich-braune Triebe ausbildet. Die Blätter sind 5-10 mm lang, haben eine oval bis elliptische Form und sind wechselständig angeordnet. Ihre Oberseite ist glänzend dunkelgrün, während die Blattunterseite blass grün ist. Jeweils ein bis vier kleine rot bis korallenfarbige Blüten sind endständig an den bis zu 5 cm langen Blütenstielen angeordnet. Die Blüten haben zwei 1–2,5 mm lange Vorblätter. Die Blütenkrone wird 5–7 mm lang und hat vier bis fünf zurückgeschlagene Kronlappen. Nach der Blütezeit von Mai bis Juli entwickeln sich die kleinen Beeren (bis zu 1 cm im Durchmesser) und reifen von August bis Oktober. Sie haben eine rote Farbe, zum

Teil mit weißen Stellen und im Inneren der Beeren befinden sich jeweils 3-11 Samen (Jaquemart, 1997).

Ihr Geschmack und Aussehen ist dem der amerikanischen Cranberry sehr ähnlich. Analysen der primären Inhaltsstoffe wie Wasser und Kohlenhydrate sowie weiterer Inhaltsstoffe wie Mineralien, Vitamin C, Fruchtsäuren und Pektin ergaben für die Cranberry und Moosbeere nahezu identische Ergebnisse. In Deutschland ist die Beere weniger bekannt, während sie in Skandinavien wild gesammelt und auf den Märkten zum Verkauf angeboten wird. Man verarbeitet sie wie Preiselbeeren, d.h. vorwiegend als Kompott, Konfitüre und Likör (Dierking & Dierking, 1993).

1.1.1.3 Preiselbeere

Die Preiselbeere *Vaccinium vitis-idaea* L., ist unter mehr als 25 verschiedenen Namen bekannt und wird oftmals mit der Cranberry verwechselt. Sie gehört zur gleichen Familie aber nicht zum Subgenus *Oxycoccus* sondern ist ein wichtiger Vertreter der Untergruppe *Vitis-idaea* (Song & Hancock, 2011).

Vaccinium vitis-idaea ist ein mehrjähriger immergrüner Strauch, der in den borealen Wäldern Nordeurasiens und Nordamerikas anzutreffen ist. Er wächst in Tälern sowie in den Bergen auf stark sauren Böden und Torfmooren und hält extreme Temperaturen von bis zu -40 °C aus (Bäumler, 2006).

Spezies: *Vaccinium Vitis-idaea*

Subgenus: *Vitis-idaea*

Synonyme

(National Germplasm Resources Laboratory, 2012)



Allgemeine Namen:

Englisch: alpine cranberry, cowberry, foxberry, lingberry, lingen, lingonberry, lingon, dry-ground cranberry, mountain cranberry, partridgeberry, rock cranberry, redberries, foxberry

Französisch: airelle vigne-d'Ida, graines ouges

Deutsch: Preiselbeere

Japanisch: kokemomo

Schwedisch: lingon, polarlingon

Finnisch.: puolukka

Norwegisch/Dänisch: tyttebær

Botanische Namen:

· *Vaccinium vitis-idaea* var. *minus* Lodd. et al.

· *Vaccinium vitis-idaea* subsp. *minus* (Lodd. et al.) Hultén

Die Preiselbeere wächst an 5-40 cm hohen bodendeckenden Sträuchern mit hellrosa farbigen glockenförmigen Blüten. Die kleinen ovalen Blätter sind etwa 1-2,5 cm lang,

an der Oberseite dunkel grün und auf der Blattunterseite hell grün. Die Früchte sind erbsengroß und haben eine leuchtend- bis dunkelrote Farbe.

Generell wird die Preiselbeere in zwei Typen unterteilt: die wilde Preiselbeere – *Vaccinium vitis-idaea* L. var. *minus* und die europäische *Vaccinium vitis-idaea* L. Die Sträucher der wilden Preiselbeere sind kleiner und tragen nur einmal im Jahr von August bis September Früchte. Die europäische Preiselbeere hat eine zweite Fruchtreife von Ende Oktober bis Anfang November (Hjalmarsson, 2001).

Die Preiselbeere wird selten kultiviert, sondern meist in ihrem natürlichen Verbreitungsgebiet wild gesammelt. In Nordeuropa, insbesondere Skandinavien, verarbeiten die Einheimischen die Beeren zu Kompott, Marmelade, Saft oder Sirup. Darüber hinaus wurde die Preiselbeere in den Verbreitungsgebieten auch als Heilmittel zur Vorbeugung von Skorbut sowie als Mittel gegen Durchfall genutzt. Der Tee von den Blättern der Pflanze wurde gegen Rheumatismus sowie zur Vorbeugung von Harnwegsinfektionen verwendet (Hjalmarsson, 2001).

Die erste Kultivierung erfolgte Mitte 1960 in Norwegen. Später wurde die Preiselbeere auch in Deutschland und Nordamerika kultiviert. Der kommerzielle Anbau erstreckt sich weltweit lediglich auf 20,8 ha, wobei ein Viertel davon in Nordamerika angebaut wird. Heutzutage werden in Skandinavien und im restlichen Europa jährlich etwa 82 Tonnen Preiselbeeren konsumiert und liefern in einigen Regionen einen wichtigen Beitrag zum Speiseplan (Penhallegon, 2006; Penhallegon, 2009). In der Lebensmittelindustrie werden Preiselbeeren gerne als Ersatz für Cranberrys verwendet, da ihre Konsistenz und der saure Geschmack sehr ähnlich sind. Die Produktpalette von Erzeugnissen aus Preiselbeere beinhaltet Konfitüren, Sirupe, Soßen, Eiscremes, Muffins, Säfte, Pürees, Liköre, Weine, Aromakonzentrate etc. Für sie besteht vor allem in Skandinavien eine große Nachfrage (Burt & Penhallegon, 2003).

1.1.2 Heidelbeere und Blaubeere

Die wichtigsten Vertreter in der Sektion *Cyanococcus* sind die Heidelbeere, *Vaccinium myrtillus* sowie die beiden Blaubeeren, *Vaccinium corymbosum* (Hochbusch Blaubeere) und *Vaccinium angustifolium* (Niedrigbusch Blaubeere). *Vaccinium Myrtillus* ist einer der wichtigsten wild geernteten Vertreter, wohingegen *V. corymbosum* und *V. angustifolium* kultiviert werden. Vor 1916 wurden beide Blaubeeren wild geerntet (Song & Hancock, 2011).

1.1.2.1 Europäische Heidelbeere

Vaccinium myrtillus ist ein 20-30 cm hoher, stark verzweigter Halbstrauch, der unter idealen Bedingungen bis zu 50 cm hoch werden kann. Aus dem Wurzelstock treiben reich verästelte mit üppigem Blattwerk bestückte Triebe aus. Die festen kleinen (1-2,5 cm) rundlich bis eiförmigen und leicht zugespitzten hellgrünen Blätter sind kurz gestielt und wechselständig angeordnet. Die Ränder sind fein gesägt, Blattober- und -unterseite sind kahl. In den Blattachsen sitzen einzeln oder paarweise angeordnet die hängenden, glockenförmigen Blüten, die je nach Art und Sorte eine Farbe von

blassrosa bis fast weiß aufweisen. Die rundlichen Blüten sitzen auf kurzen Blütenstielen (4-7 mm). Der Kelch ist mit dem Fruchtknoten verwachsen und die Kronblätter wölben sich glockenförmig zusammen. Je nach klimatischen Bedingungen blüht die Heidelbeere zwischen April und Juni. Die Beeren sind blau-schwarz, rund mit einem abgeflachten Ende und 6-10 mm groß. Die reifen Früchte werden zwischen Juli und September gesammelt. Die Heidelbeere hat zahlreiche Namen. Ihr englischer Name „bilberry“ leitet sich vom Dänischen „bollebar“ ab, was dunkle Beere bedeutet (McKenna et al., 1998).

Spezies: *Vaccinium myrtillus*

Subgenus: *Myrtillus*

Synonyme

(National Germplasm Resources Laboratory, 2012)



Bild (oben): fotografiert von Arnstein Rønning

Allgemeine Namen

Englisch: bilberry, blaeberry, burren myrtle, dyeberry, false huckleberry, hurtleberry, whinberry, whortleberry, wineberry, blueberry

Französisch: airelle noire, ambreselle, brimbelle, maurettes, myrtille, myrtille vraie, raisin des bois.

Deutsch: Bickbeere, Heidelbeere, Blaubeere, Schwarzbeere

Spanisch: arándano, ráspano, mirtillo

Schwedisch: blåbär

Botanische Namen:

· *Vaccinium yatabei* Makino

Die Beere hat sowohl als therapeutisches Heilmittel, als auch als Nahrungsmittel eine lange Tradition. In Nordamerika wurde die Heidelbeere traditionell als Digestivum bei Magendarmkrankungen (wie z.B. Durchfall, Dyspepsie und Entzündungen des gastrointestinalen Trakts), gegen Nachtblindheit, Harnwegsinfektionen, Skorbut, Durchblutungsstörungen, Prellungen, Rheuma und vieles anderes genutzt (McKenna et al., 1998).

1.1.2.2 Andenheidelbeere

Die Andenheidelbeere *Vaccinium floribundum* Kunth wächst in der sogenannten Páramo, einem für die südamerikanischen Hochanden (3400-3800 m) typischen Vegetationsgebiet. Besonders in den nördlichen Hochanden - in Ecuador, Kolumbien, Venezuela und Bolivien - ist sie zahlreich zu finden. Typisch für diese Vegetationsform ist eine hohe Luftfeuchtigkeit bei niedriger Temperatur (Pepenoe et al., 1989; Sklenár, 2001). Die Andenheidelbeere wächst an schlanken 2-3 m hohen Sträuchern, die weiß-pinke Blüten tragen. Die runden Beeren haben einen Durchmesser von bis zu 8 mm, eine blaue, fast schwarze Farbe und tragen zahlreiche Samen. Da die Bee-

ren bislang keiner Selektion unterlagen, sind sie qualitativ sehr unterschiedlich. In Ecuador werden sie roh, als Kompott oder in speziellen Gerichten verzehrt. Bislang sind die Früchte außerhalb Lateinamerikas wenig bekannt und Studien zu den Inhaltsstoffen sind rar. Als wenig genutzte Früchte stellen sie nicht nur auf Grund ihrer wertvollen Inhaltsstoffe, sondern auch geschmacklich eine Bereicherung unseres Speiseplans dar, wie z.B. die Erdbeere (*Fragaria chiloensis*), die ursprünglich auch als eine wenig genutzte Frucht aus Chile nach Europa kam und heute aus unserem Speiseplan nicht mehr wegzudenken ist. Bislang wird die Andenheidelbeere wild gesammelt, könnte zukünftig aber auch kultiviert und vermarktet werden (Pepeno et al., 1989).

Vaccinium: *Vaccinium floribundum*
Kunth
Subgenus: *Pyxothamnus*

Synonyme

(National Germplasm Resources Laboratory, 2012)



Bild: Fotografiert von Franz Xaver, lizenziert unter Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0 Unported

Allgemeine Namen:

Englisch: Colombian blueberry, Andean blueberry

Schwedisch: mortino

Spanisch: mortino

Deutsch: Andenheidelbeere

Botanische Namen:

Vaccinium mortinia Benth.

1.1.2.3 Amerikanische Blaubeeren

Highbush Blueberry – *Vaccinium corymbosum*

Die sogenannte „highbush blueberry“, *Vaccinium corymbosum*, ist ursprünglich in Nordamerika beheimatet und ist die am meisten vermarktete und verkaufte Blaubeere. 1989 wurden in Nordamerika die Beeren auf über 40 000 ha für den kommerziellen Vertrieb angebaut. Hierbei wurden über 50 Sorten, unter Berücksichtigung unterschiedlicher saisonaler Bedingungen und für den Verkauf wertgebender Eigenschaften, entwickelt. Sie bevorzugt feuchte saure Böden wie in Moor- und Sumpfgebiete oder Seeufer, ist aber auch in Wäldern mit trockeneren Böden anzutreffen. *Vaccinium corymbosum* ist ein 2-4 m hoher, stark verzweigter Halbstrauch (Ursprung des Namens „highbush blueberry“). Die kurzgestielten einfachen Laubblätter haben eine länglich-elliptisch, spitz zulaufende Form. Sie werden zwischen 4-8 cm lang und sind an der Blattunterseite fein behaart. Von Januar bis Juni tragen die Sträucher glockenförmige längliche weiße oder hellrosafarbene Blüten mit jeweils fünf Blütenblättern. Aus den Blüten entwickeln sich nach etwa 62 Tagen die 5-12 mm großen blau bis dunkelblauen Beeren, die zahlreiche Samen enthalten. Die Sträucher tragen Früchte von April bis Oktober (NRCS, 2012).

Spezies: *Vaccinium corymbosum*

Subgenus: *Cyanococcus*

Synonyme

(National Germplasm Resources Laboratory, 2012)



Bilder (unten rechts und links): fotografiert von Kurt Stüber

Allgemeine Namen:

Englisch: American blueberry, blueberry, highbush blueberry, swamp blueberry

Französisch: airelle d'Amérique, airelle en corymbe (Canada), bleuet à corymbes, corymbelle, myrtille d'Amérique, myrtille géante

Deutsch: amerikanische Blueberry

Spanisch: arándano americano

Botanische Namen:

- *Vaccinium atlanticum* E. P. Bicknell
- *Vaccinium constablaei* A. Gray

Lowbush Blueberry - *Vaccinium angustifolium*

Das Verbreitungsgebiet der *Vaccinium angustifolium* auch „lowbush blueberry“ genannt, erstreckt sich von der Ostküste Kanadas (Labrador und Neufundland) bis ins Landesinnere nach Manitoba, sowie in den USA über die Neuenglandstaaten bis hin zu den Gebieten um die Großen Seen. *V. angustifolium* ist ein niedrig wachsender Strauch der zwischen 5-60 cm hoch wird (Ursprung des Namen „lowbush blueberry“) und wächst typischerweise in dichten Kolonien. Die Wurzeln sind stark verzweigt und wachsen oberflächennah, aber es kann auch eine bis zu 1 m lange Pfahlwurzel ausgebildet werden. Die weißen, glockenförmigen Blüten werden ca. 5 mm lang. Die süßen, runden, blau-schwarzen Beeren werden etwa 4-11 mm groß, wobei manche Sorten auch bis zu 25 mm große Früchte tragen. Jede Beere enthält im Inneren zahlreiche kleine Samen (NRCS, 2012).

Bereits die Ureinwohner Amerikas verzehrten die Beeren frisch oder getrocknet in Gebäck, zu Suppen und zu Fleisch. Die frühen Siedler Amerikas aßen die Beeren frisch und in Form von Konfitüre, Gelees oder Kompott. In der heutigen Zeit ist sie eines der wichtigsten kommerziellen Erzeugnisse im Nordosten Amerikas und Kanadas. Dort werden sie in Ontario, Nova Scotia, New Brunswick, Quebec und Maine kultiviert. Ein Hauptteil wird jedoch von abgegrenzten und kontrollierten Gebieten mit wild wachsendem Bestand gesammelt. Ihr Einsatz in der Lebensmittelindustrie ist vielfältig. Hauptsächlich werden sie als Konserven vertrieben, aber auch für Saft, Wein, Muffins, Joghurt etc. genutzt (NRCS, 2012).

Spezies: *Vaccinium angustifolium* L.

Subgenus: *Cyanococcus*



Synonyme

(National Germplasm Resources Laboratory, 2012)

Allgemeine Namen:

Englisch: blueberry, early lowbush blueberry, late sweet blueberry, low sweet blueberry, lowbush blueberry, sweethurts, upland lowbush blueberry

Französisch: bleuet à feuilles étroites

Botanische Namen:

- *Vaccinium angustifolium* var. *hypolasium* Fernald
- *Vaccinium angustifolium* var. *laevifolium* House
- *Vaccinium angustifolium* var. *nigrum* (Alph. Wood) Dole
- *Vaccinium brittonii* Porter ex E. P. Bicknell
- *Vaccinium lamarckii* Camp.
- *Vaccinium pensylvanicum* Lam.
- *Vaccinium pensylvanicum* var. *nigrum* Alph. Wood

1.2 Konsum, Produktion und Vermarktung der Cranberry

Kultivierung

Im Jahre 1810 machte Captain Henry Hall auf Cape Cod (Massachusetts) die ersten Kultivierungsversuche mit Cranberrys und erforschte die nötigen Boden- und Wachstumsbedingungen. 1820 verschiffte er seine Cranberrys nach Boston und New York. Bald darauf kultivierten auch andere Farmer Cranberrys auf Cape Cod und schließlich in ganz Massachusetts, wo noch heute die zwei wichtigsten Sorten „Early Black“ und „Howes“ angebaut werden. Bis in die Mitte des 19. Jahrhunderts weitete sich die Kultivierung der Beere auch in andere Teile Nordamerikas aus (1835 New Jersey, 1853 Wisconsin, Oregon und Washington zuletzt). Boston wurde zum wichtigsten Handelszentrum. Von dort aus wurden die Cranberrys in Fässern (1 Barrel = 100 Pounds; ca. 45 kg) weiter in das Landesinnere der USA und nach Europa gebracht. So ist noch heute das Barrel die Standardmaßeinheit für die Cranberry. Im

Jahre 1860 gab es einen Aufschwung der Cranberryindustrie, die 1930-31 mit einer Ertragsfläche von 27 600 Hektar ihren Höhepunkt fand. In den Folgejahren gerieten Cranberrys auf Grund des Einsatzes von Pestiziden in Verruf, so dass die Cranberryproduktion 1959 einen Tiefpunkt erreichte, da viele Beeren vernichtet werden mussten. Erst ein Jahr später erholte sich dieser Industriezweig wieder, und 1999 wurden Cranberrys weltweit auf ca. 50 000 Hektar angebaut. Im Laufe der Zeit wurden auch Cranberryfelder in anderen nordamerikanischen nicht-traditionellen Anbaugebieten sowie Chile und Europa angelegt. Bis

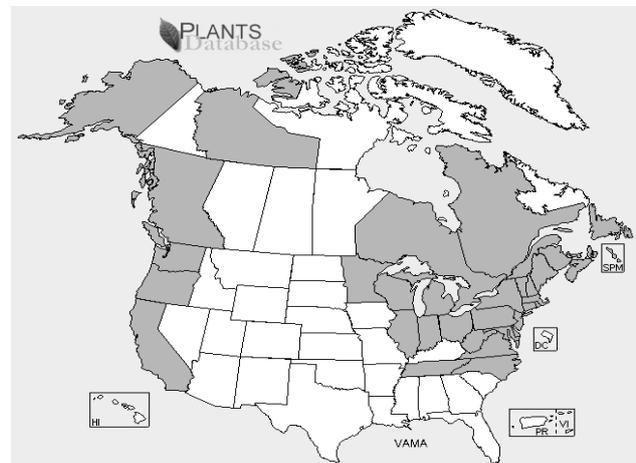


Abbildung 1: Anbauggebiete der Cranberry (grau) in Amerika und Kanada (USDA, 2011)

heute werden Cranberrys in vielen Teilen Amerikas angebaut (s. Abbildung 1) (USDA, 2011; Eck, 1990). Aus den zahlreiche Sorten (s. Tabelle 29, Anhang A.1, S. 130 ff.), die im Laufe der Zeit kultiviert und benannt wurden, sind die wichtigsten „Ben Lear“, „Early Black“, McFarlin“, „Pilgrim“, „Searless“ und „Stevens“ (Caruso et al., 2000). Sie machen 90% der gesamten Ernte aus (Luby et al., 1991).

Cranberryernte

Bis 1940 wurden Cranberrys mit einer Art Schaufel von Hand geerntet. Parallel wurde die Wasserernte entwickelt, die ihren Ursprung 1920 in Wisconsin hatte. Dabei werden die Cranberrys zunächst von den Sträuchern geschüttelt und anschließend werden die Felder geflutet. Dabei macht man sich die vier Luftkammern der Beere zunutze, aufgrund dessen die Cranberrys auf der Wasseroberfläche schwimmen und abgeschöpft werden können. Heutzutage werden nahezu alle Cranberrys durch Fluten der Felder geerntet (Caruso et al., 2000; Trehane, 2004).

Cranberryproduktion und -konsum in der heutigen Zeit

Die Produktion von Cranberrys erreichte 2011 in den USA 348 500 Tonnen (7,68 Millionen Barrel). Die wichtigsten Anbauggebiete sind Wisconsin, Massachusetts, New Jersey, Oregon und Washington. Wisconsin trägt hier mit 59% den größten Anteil bei (s. Abbildung 2). Die Anbaufläche liegt aktuell (2012) etwa bei 50 000 Hektar, die sich auf den Norden der USA und Kanada verteilt. Der Anteil der Vereinigten Staaten beträgt dabei 15 580 Hektar (USDA, o. D.).

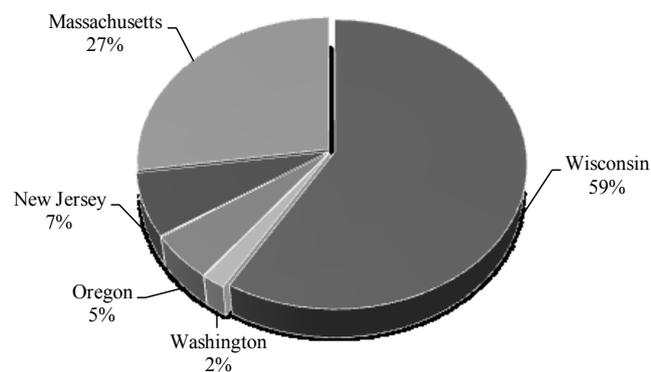


Abbildung 2: Verteilung der Cranberryproduktion in den USA in 2011 (USDA, o. D.)

Vermarktung der Cranberry

In der amerikanischen Fruchtsaftindustrie besteht für Getränke aus Cranberrysaft, aber auch andere Cranberryprodukte schon lange eine große Nachfrage. Auch in Deutschland sind im Laufe der vergangenen Jahre immer mehr Cranberryprodukte im Handel zu finden. Darunter wird eine große Auswahl an Cranberrysäften, -nektaren und -mixgetränken angeboten (Cranberry Marketing Committee, 2012).

Europa ist der größte Markt für Fruchtsäfte und -nektare. Dabei ist Deutschland mit 28% Spitzenreiter. Der Gesamtverbrauch in der EU lag 2009 bei 11,26 Milliarden Liter. Auch wenn während der schlechten Wirtschaftslage der Saftkonsum 2009 ein wenig rückläufig war, gelangen Fruchtsäfte zunehmend wieder in den Fokus des Verbrauchers und bleiben ein beliebtes Getränk. So stieg der Pro-Kopf-Konsum seit den 60er Jahren von 1,9 Liter bis heute auf 37 Liter an (A.I.J.N., o. D.). Im Zuge einer ausgewogenen Ernährung ist das Interesse an Produkten, insbesondere mit einer vermeintlichen positiven Wirkung auf die Gesundheit, gestiegen. In der Getränkeindustrie ist ein klarer Trend zu Produkten mit gesundheitlichem Zusatznutzen durch bioaktive Stoffe festzustellen (Ansari & Kumar, 2012). So gelangt auch die Cranberry mit Ihren zahlreichen potentiellen positiven Einflüssen auf die Gesundheit (s. Abschnitt 1.5, S. 23 ff.) zunehmend in den Fokus.

Im September 2009 sind in Europa 145 neue Produkte auf den Markt gekommen. In Deutschland sind allein im Jahre 2012, von April bis Juni, 28 neue Produkte erschienen. Insgesamt ist in den Jahren 2001 bis 2012 die Anzahl von 6 auf 620 unterschiedliche Cranberryprodukte in Deutschland angestiegen (s. Abbildung 3, S. 12). Die Produktvielfalt ist hierbei sehr breit und spricht somit unterschiedliche Verbrauchergruppen an (Cranberry Marketing Committee, 2012).

Die jährliche Gesamtproduktion an Cranberrys im Jahr 2011 liegt bei 349 795 Tonnen (7,71 Millionen Barrels). Für 2012 ist laut USDA (United States Department of Agriculture) mit 348 561 Tonnen (7,68 Millionen barrels) ein Rückgang von lediglich 1% vorausgesagt worden. Ein Barrel Cranberrys wurde 2011 mit 68,5 \$ gehandelt (USDA, o. D.).

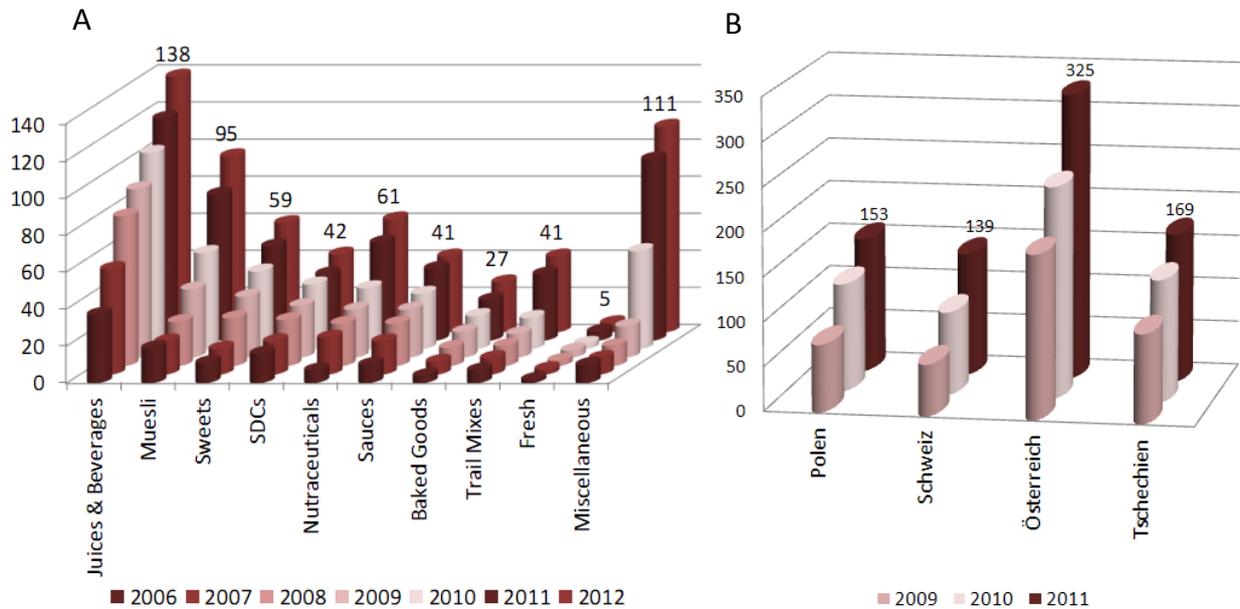


Abbildung 3: A: Anzahl der unterschiedlichen Cranberryprodukte und Anteile verschiedener Produktgruppen, die innerhalb 2006-2012 in Deutschland auf den Markt gekommen sind
 B: Anzahl verschiedener Cranberryprodukte in unterschiedlichen Ländern Europas, die innerhalb 2009-2011 auf den Markt gekommen sind

Im Jahre 2005 tauchte erstmals im Zuge der Vermarktung von Früchten der Begriff „Superfruits“ (Superfrüchte) auf. Diese Wortschöpfung wurde immer häufiger in den Medien genutzt, als zunehmend exotische Früchte auf den amerikanischen und anschließend auf den europäischen Markt gelangten. Die Bezeichnung „Superfruit“, ist eine Erfindung der Marketingbranche, um exotische Früchte für den Verbraucher interessanter zu machen. Folglich gibt es keine exakte Definition für diesen Begriff. Im Allgemeinen verfügen diese Früchte über einen hohen Gehalt an Antioxidantien und sekundären Pflanzenstoffen wie z.B. Polyphenole. Der Physiologe Dr. Paul Gross schlägt für die Einordnung einer solchen Frucht in seinem populärwissenschaftlichen Buch eine umfassendere Definition vor. Demnach kann eine Superfrucht wie folgt bewertet werden:

- Nährstoffvielfalt und -dichte
- Vielfalt und Dichte sekundärer Pflanzenstoffe
- Stand und Intensität der Forschung
- Fortschritt klinischer Studien
- Bekanntheitsgrad, basierend auf dem Geschmack und der Nachfrage auf dem Markt

Nach diesen Kriterien wurde eine Rangliste mit insgesamt 20 Superfrüchten aufgestellt (s. Tabelle 1). Die Cranberry steht auf Platz 7 und die Blaubeere auf Platz 10 der Liste. Blaubeeren sind vor allem wegen ihres hohen Gehalts an Anthocyanen in der Liste der Superfrüchte vertreten (Gross, 2010).

Tabelle 1: Liste der Top 20 Superfrüchte nach (Gross, 2010)

Top 20 der Superfrüchte	
1. Mango	11. Kirsche
2. Feige	12. Himbeere
3. Orange	13. Sanddorn
4. Erdbeere	14. Guave
5. Goji	15. Brombeere
6. Rote Trauben	16. schwarze Johannisbeere
7. Cranberry	17. Dattel
8. Kiwi	18. Granatapfel
9. Papaya	19. Açaí
10. Blaubeere	20. getrocknete Pflaumen

1.3 Verfälschung von Lebensmitteln und Authentizitätskontrolle anhand von Polyphenolprofilen

Das Lebensmittelrecht hat neben seinem wichtigsten Ziel, dem Schutz der Gesundheit, auch das Ziel zu verhindern, dass der Verbraucher irregeführt wird. Die Irreführung des Verbrauchers durch Verfälschung von Lebensmitteln geht bis in das 17. Jahrhundert v. Chr. zurück. Dort wurden erste lebensmittelrechtliche Regelungen mit dem Codex Hammurabi eingeführt, um Lebensmittelverfälschungen zu verhindern und unter Strafe zu stellen (Mettke, 2003).

1879 wurde in Deutschland als ein erstes Gesetz zur Regelung des Verkehrs mit Lebensmitteln das Nahrungsmittelgesetz eingeführt. Die noch lückenhaften gesetzlichen Regelungen wurden stets weiter entwickelt bis hin zum heutigen Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch (LFGB). Für die Information und den Schutz des Verbrauchers sowie zur Gewährleistung eines fairen Wettbewerbs, ist eine lebensmittelrechtliche Regelung essentiell. Heutzutage ist deshalb im Lebensmittelrecht im § 11 des LFGB das Verbot der Irreführung verankert (Mettke, 2003).

Die Verfälschung von Lebensmitteln wie Fruchtsäfte und andere Fruchtprodukte und die damit notwendige Prüfung ihrer Authentizität, ist auch in der heutigen Zeit stets eine aktuelle und wichtige Fragestellung im Zuge der Qualitätssicherung. Eine Verfälschung umfasst hierbei nicht nur eine falsche oder uneindeutige Etikettierung, sondern kann auch in der Form erfolgen, dass z.B. preisgünstigere bzw. minderwertigere Rohware zugemischt und damit ein teureres bzw. qualitativ höherwertiges Produkt vorgetauscht wird. Bei hochpreisigen Früchten, wie der Cranberry (s. Abschnitt 1.2, S. 10 ff.) ist die Gefahr einer Verfälschung stets gegeben (Flügel et al., 2005). Ein Liter Cranberrymuttersaft wird in Deutschland aktuell für etwa 9-10 € verkauft. Preiselbeermuttersaft liegt zwischen 10-11 €. Entsprechende Angaben zur Moosbeere sind nicht erhältlich, es ist jedoch anzunehmen, dass Cranberrys auf Grund ihrer Importkosten preislich höher liegen. Da die Rohwarenpreise der *Vaccinium*-Beeren Schwankungen unterliegen, kann eine Art als preisgünstigere Alternative für die andere zur Verfügung stehen. Auf Grund der ähnlichen Eigenschaften aller drei Beeren ist ein Austausch durch eine der jeweiligen anderen jederzeit denkbar.

Die Authentizität von Lebensmitteln umfasst eine Vielzahl wirtschaftlicher Aspekte. Neben der Täuschung des Verbrauchers, und damit dem Verlust des Vertrauens in die Produkte, steht gleichermaßen der unfaire Wettbewerb gegenüber Mitbewerbern der Lebensmittelindustrie im Vordergrund (Reid et al., 2006). Durch eine Verfälschung, von z.B. Cranberrysäften durch günstigere Rohware, verschafft sich der Hersteller einen preislichen Vorteil und betreibt somit unlauteren Wettbewerb. Im Falle von Cranberry, Preiselbeere und Moosbeere beschäftigte sich bereits Anfang des 20. Jahrhunderts Dr. Griebel, im Auftrag der staatlichen Anstalt zur Untersuchung von Nahrungs- und Genussmitteln sowie Gebrauchsgegenständen für den Landespolizeibezirk Berlin, mit der Verfälschung von eingemachten Preiselbeeren mit Moosbeeren und auch mit der Unterscheidung der amerikanischen Cranberry zur Moosbeere in Zubereitungen (Griebel, 1909; Griebel, 1910; Griebel, 1924). Aufgrund der Vielzahl von immer wieder neuen Arten der Verfälschung, sind Lebensmittelanalytiker stän-

dig gefordert, diese aufzudecken, weshalb der Bedarf an neuen Methoden zum Nachweis der Authentizität nicht abreißt (Reid et al. 2006; Singhal et al., 1997).

Um Qualitätsstandards für Lebensmittel zu schaffen, gründeten die FAO (Food and Agriculture Organisation) und die WHO (World Health Organisation) die Codex Alimentarius Kommission. Sie entwickelte unter anderem für Fruchtsäfte und Nektare den „Code of Practice“, um einen fairen Handel und Qualität zu gewährleisten. Die A.I.J.N. (Association of the Industry of Juices and Nectars from Fruit and Vegetables of the European Union) repräsentiert als Vereinigung die Interessen der Fruchtsaftindustrie in Europa. Sie ist an der Gestaltung des Code of Practice beteiligt. Ihre Mitglieder sind 13 nationale Fruchtsaftverbände, darunter auch der deutsche Verband der Fruchtsaftindustrie e.V. (VdF) mit derzeit 387 Mitgliedern (Verband der Deutschen Fruchtsaftindustrie, o. D.).

Im Lebensmittelrecht ist als analytische Methode im Code of Practice für rote Fruchtsäfte die Bestimmung der Authentizität über die Anthocyanprofile mittels HPLC-UV in der IFU-Methode¹ Nr. 71 beschrieben. Der Verband der deutschen Fruchtsaftindustrie entwickelte zur Überprüfung der Qualität von Fruchtsäften die sogenannten „Richtwerte und Schwankungsbreiten bestimmter Kennzahlen“ (RSK-Werte). Auch für die Cranberry wurden bereits RSK-Werte entwickelt (Hofsommer, 1988). Zu diesem Zweck wurden in einem sogenannten „Profil“ die organischen Säuren (Chinasäure, Äpfelsäure, Zitronensäure und Gesamtsäure) sowie die Zucker der Cranberry betrachtet. Aus der Messung von 108 Cranberryproben unterschiedlicher Standorte Nordamerikas wurden schließlich die RSK-Werte erstellt. Das Verhältnis aus Chinasäure und Äpfelsäure wurde dabei als entscheidender Parameter für einen Verfälschungsnachweis definiert (der Wert darf nicht unter 1,15 liegen). Ein weiterer Parameter ist das Glucose/ Fructose-Verhältnis, wobei Glucose stets in höheren Konzentrationen enthalten ist. Auch über das Profil der Anthocyane wird eine Möglichkeit, den Zusatz weiterer Säfte zu detektieren, beschrieben (Coppola et al., 1978).

Trotz der zahlreichen Kriterien durch die RSK-Werte zur Beurteilung von Fruchtsäften und -nektaren und den vielen Methoden, die in der Literatur beschrieben werden, gibt es immer wieder neue Möglichkeiten der Verfälschung und Manipulation, die bis heute nicht nachweisbar sind. So ist eine Verfälschungsnachweis von Cranberry mit Moosbeerensaft oder sogar die ausschließliche Verwendung von Moosbeere anstelle der Cranberry noch nicht erarbeitet worden. Auch mit der Entwicklung von neuen Produkten bleiben immer wieder neue Fragestellungen nicht aus. Oftmals ist dabei bereits die Bezeichnung von Cranberryprodukten problematisch. So birgt die botanische Klassifizierung der Cranberry Schwierigkeiten, da es immer wieder zu Verwechslungen mit Moosbeere und Preiselbeere sowie zu Übersetzungsfehlern kommt (siehe Abschnitt 1.1 Botanik, S. 1 ff.).

Zur Beurteilung der Authentizität von pflanzlichen Lebensmitteln hat sich bislang die Polyphenolanalytik mehrfach bewährt (Flügel et al., 2005; Engelhardt & Galensa, 1997; Obón et al., 2011). Da die Polyphenolbiosynthese in der jeweiligen Pflanze ge-

¹ Von der Internationalen Fruchtsaft-Union (IFU) entwickelte Analysenmethode

netisch fixiert ist, ist das qualitative Polyphenolprofil bei einer Art immer identisch, so dass eine Abweichung im Profil einen wichtigen Verfälschungsmarker darstellen kann. Hierbei können sowohl die An- und Abwesenheit von sogenannten Indikatorverbindungen, das gesamte Profil als qualitativer Fingerprint aber auch Peakflächenverhältnisse zur Bestimmung der Authentizität genutzt werden (Zimmermann & Galensa, 2007; Engelhardt & Galensa, 1997).

1.4 Phenolische Inhaltsstoffe der *Vaccinium*-Beeren

Phenolische Inhaltsstoffe sind im Pflanzenreich weit verbreitet. Sie gehen aus dem pflanzlichen Sekundärstoffwechsel hervor und erfüllen für die Pflanze wichtige Aufgaben. Sie fungieren als Abwehrstoffe, Schutz gegen Sonnenlicht sowie Duft-, Aroma- und Farbstoffe. Die Struktur der phenolischen Verbindungen ist vielfältig, aber allen gemeinsam ist, dass sie sich in ihrer chemischen Grundstruktur vom Phenol ableiten. Sie lassen sich in folgende unterschiedliche Gruppen einteilen: Phenolcarbonsäuren und ihre Derivate, Flavonoide und niedermolekulare Phenole (Quideau et al., 2011). Eine große Gruppe stellen die Flavonoide dar. Sie lassen sich in weitere Untergruppen einteilen, darunter z.B.: Chalcone, Flavone, Flavonole, Flavanole, Flavanone, Isoflavonoide, Anthocyane und kondensierte Tannine (Proanthocyanidine) (Iwashina, 2000).

Vaccinium-Spezies weisen eine große Vielfalt an Flavonoiden auf (Häkkinen et al. 1999a; Mikulic-Petkovsek et al., 2012), wobei hauptsächlich Inhaltsstoffe aus drei Hauptklassen der Flavonoide, den Anthocyanen, Flavonolen und Flavanolen vorherrschend sind. Des Weiteren sind auch Phenolcarbonsäuren und deren Derivate sowie Stilbene in *Vaccinium*-Spezies enthalten (Pappas & Schaich, 2009).

1.4.1 Anthocyane

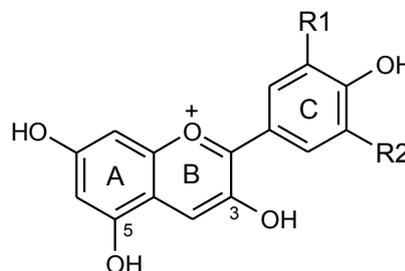
Anthocyane sind natürlich vorkommende wasserlösliche Farbstoffe. Sie werden in der Zellvakuole akkumuliert und sind für die intensive Färbung von zahlreichen Blüten und Früchten sowie auch für die rot-blaue Farbe der *Vaccinium*-Beeren verantwortlich. Meist liegen die Anthocyane nicht als Aglykone (Anthocyanidine) vor, sondern sind glykosidisch an Zucker gebunden (Horbowicz et al., 2008). Die Biosynthese der Anthocyane ist vollständig aufgeklärt, inklusive der Identifizierung der beteiligten Enzyme (Oancea & Oprean, 2011).

Anthocyanidine sind hydroxylierte und methoxylierte Derivate des Phenyl-2-benzopyrylium (Flavylium Salze). Durch das unterschiedliche Substitutionsmuster von Hydroxy- und Methylgruppen am C₆-C₃-C₆-Grundkörper, konnten bisher 25 verschiedene Aglykone in der Natur gefunden werden. Jedoch sind es sechs Anthocyanidine (s. Tabelle 2, S. 18), die am häufigsten vorkommen (95%). Die Farbe variiert mit dem Substitutionsmuster am B-Ring. Je mehr Hydroxylgruppen auftreten, desto weiter verschiebt sich das Absorptionsmaximum in den roten Bereich. Je mehr Methoxygruppen vorhanden sind, desto weiter ist es in den blauen Bereich verschoben (He & Giusti, 2010). In allen untersuchten Beeren sind unterschiedliche Vertreter dieser sechs Anthocyanidine zu finden (Wu & Prior, 2005).

Die am häufigsten vorkommenden Zuckerkomponenten sind Glucose, Galactose, Rhamnose und Arabinose. Am weitesten verbreitet sind die Anthocyane als 3-Glykosid oder 3,5-Diglykosid (Clifford, 2000).

Tabelle 2: Substitutionsmuster der sechs in der Natur am häufigsten vorkommenden Anthocyane und deren Farbe und Absorptionsmaximum (He & Giusti, 2010)

Name	Substitutionsmuster		Farbe in salzsaurem Methanol	λ_{\max}
	R1	R2		
Cyanidin	OH	H	Magenta	535
Peonidin	OCH ₃	H	Magenta	532
Pelargonidin	H	H	Rot	520
Malvidin	OCH ₃	OCH ₃	Violett/ Purpur	542
Delphinidin	OH	OH	Violett/ Purpur	546
Petunidin	OCH ₃	OH	Violett/ Purpur	543



Neben der Glykosylierung können die Anthocyane auch in acylierter Form vorliegen. Sie enthalten zusätzlich eine oder mehrere Säuren, die über eine Esterbindung an unterschiedlichen Positionen des Zuckers gebunden sein können. Als Bindungspartner kommen organische, aliphatische oder aromatische Säuren wie z.B. Malon-, Oxal-, Essig-, Zimt-, Cumarsäure etc. in Frage (He & Giusti, 2010).

1.4.2 Flavanole - kondensierte Proanthocyanidine

Proanthocyanidine (PACs) sind im Pflanzenreich weitverbreitet und kommen in Früchten, Samen, Rinden und Blättern zahlreicher Pflanzen vor. Sie akkumulieren in unterschiedlichsten Pflanzengeweben und -organen zum Schutz vor Fraßfeinden. Sie geben Getränken wie Wein, Fruchtsäften und Tee einen adstringierenden Geschmack und Aroma. PACs werden zunehmend wegen ihrer potentiellen Effekte auf die Gesundheit geschätzt (Xie & Dixon, 2005; Dixon et al., 2005).

Proanthocyanidine (kondensierte Tannine) sind oligomere und polymere Endprodukte der Flavonoidbiosynthese. Sie bestehen aus monomeren Flavan-3-olen, die durch unterschiedliche Bindungen miteinander verknüpft sind. Es wurden bislang 15 Unterklassen identifiziert, von denen jedoch lediglich folgende drei in pflanzlichen Lebensmitteln vorkommen: Procyanidine – (Epi)catechin-Polymere, Prodelphinidine – (Epi)gallocatechin-Polymere und Propelargonidine – (Epi)afzelechin-Polymere (Beecher, 2003; Gu et al., 2003b).

Proanthocyanidine können je nach Struktur der Monomere (unterschiedliche Stereochemie und Substitutionsmuster) variieren (s. Abbildung 4, S. 19). Die meisten Proanthocyanidine sind jedoch aus (+)-Catechin und (-)-Epicatechin aufgebaut (He et al., 2008).

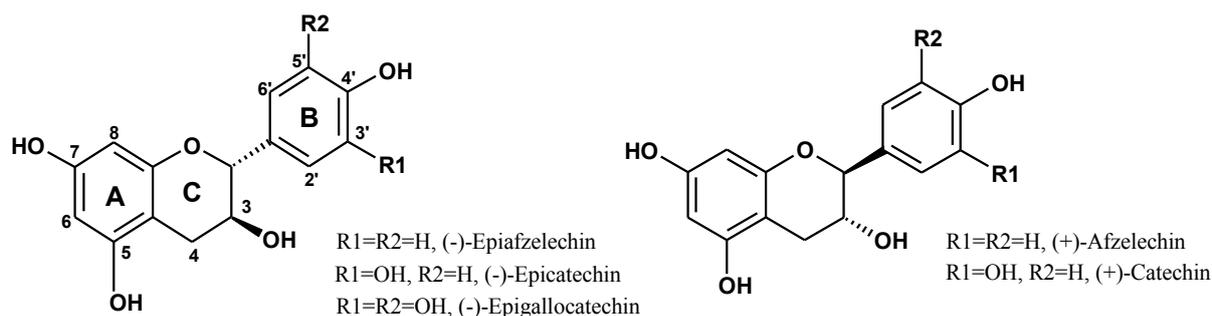


Abbildung 4: Je nach Konfiguration an C2 und C3 (asymmetrische Zentren) kommt es zur 2,3-*cis* oder 2,3-*trans*-Konfiguration. (-)-Epicatechin liegt meist in der 2,3-*cis*-Konfiguration vor und ist so die häufigste Elongationseinheit

Je nachdem wie die Monomere miteinander verknüpft sind, unterscheidet man zwischen A- und B-Typ-verknüpften Proanthocyanidinen. B-Typen sind lediglich über C-C-Bindungen verknüpft, während A-Typen zusätzlich eine Etherbindung aufweisen. Prinzipiell kann eine Kopplung z.B. zwischen C4, der „oberen Einheit“ und C8 oder C6 eines weiteren Monomers, der „unteren Einheit“, erfolgen. Bei A-Typen wird eine zusätzliche Interflavanbindung sowohl mit dem Sauerstoff an C7 oder C5 gebildet (s. Abbildung 5). Eine solche C2-O-C7 Bindung weist z.B. das Procyanidin A2 auf, welches in *Vaccinium*-Spezies vorkommt. Die Kombination der Bindungen führt zu einer großen dreidimensionalen strukturellen Vielfalt, auch bereits bei kleineren Proanthocyanidinen (Dixon et al., 2005).

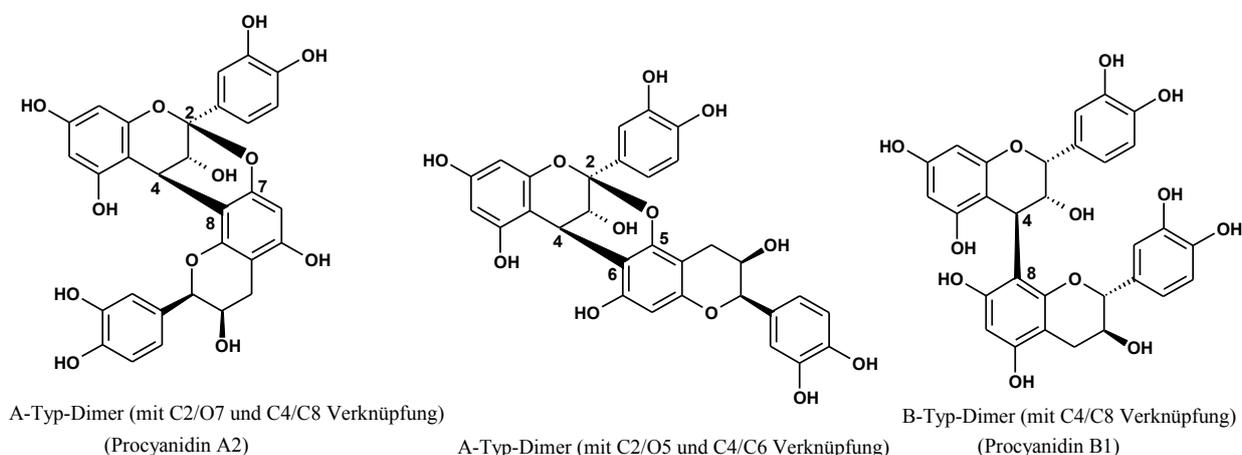


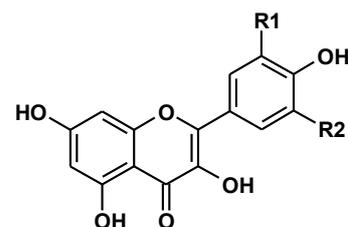
Abbildung 5: Struktur unterschiedlicher A-Typ-Procyanidin-Dimere und eines B-Typ-Dimers

A-Typ-Procyanidine sind in der Natur weniger weit verbreitet. Sie kommen allerdings durchwegs in *Vaccinium*-Spezies vor und sind insbesondere charakteristisch für die Cranberry. Unter den in *Vaccinium*-Spezies gefundenen Strukturen sind manche selten oder sogar einzigartig und bisher nur in der Cranberry identifiziert worden (Neto et al., 2005). Procyanidine mit zwei A-Typ-Verknüpfungen sowohl in der terminalen als auch den mittleren Einheiten, wurden beispielsweise neben der Cranberry bislang nur in Erdnüssen identifiziert (Gu et al., 2003a; Prior & Gu, 2005). In der Cranberry sind vorwiegend Proanthocyanidin-Dimere, -Trimere und größere

Oligomere aus Epicatechin enthalten. Es wurden auch bereits Moleküle bis zu einem Polymerisationsgrad von 12 Einheiten mit bis zu vier A-Typ-Verknüpfungen gefunden (Neto et al., 2005). Auch in Blaubeeren sind zahlreiche oligomere Procyanidine enthalten. Im Vergleich zur Cranberry ist der Procyanidingehalt jedoch niedriger. Die Oligomere bestehen ebenfalls aus (Epi)catechin-Einheiten, sind jedoch zumeist nur einfach miteinander verknüpft (Prior et al., 2001).

1.4.3 Flavonole

Flavonole sind die im Pflanzenreich am häufigsten vorkommenden Flavonoide. In pflanzlichen Lebensmitteln sind unter den Flavonolen vor allem Kämpferol, Myricetin, Quercetin und Isorhamnetin zu finden (s. Abbildung 6). Meistens kommen sie gebunden als 3-O-Glykoside vor (Crozier et al., 2009). Bislang sind ca. 900 Flavonol-O-Glykoside beschrieben, üblicherweise als 3-, aber auch als 7-, 3'- oder 4'-Glykoside. Die am häufigsten gebundenen Zucker sind hierbei Glucose, Galactose und Rhamnose; seltener Xylose, Arabinose oder Glucuronsäure (Iwashina, 2000).



Kämpferol	R1 = R2 = H
Quercetin:	R1 = H; R2 = OH
Myricetin:	R1 = R2 = OH
Isorhamnetin:	R1 = H; R2 = OCH ₃

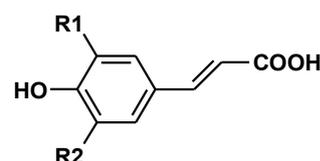
Abbildung 6: Struktur häufig vorkommender Flavonole

Beeren sind bekannt für ihre hohen Flavonolgehalte. In einer Studie von Häkkinen et al. (1999b) wurde der Gesamtflavonolgehalt nach Hydrolyse in unterschiedlichen Beeren bestimmt. Die Moosbeere enthält demzufolge mit 15,7-26,3 mg/ 100g (FG) im Vergleich zur Preiselbeere mit 7,4-17,6 mg/ 100 g (FG), Blaubeere mit 5 mg/ 100 g (FG) und Heidelbeere mit 43-51 mg/ 100 g (FG) den höchsten Gesamtflavonolgehalt. Cranberrys wurden in dieser Studie nicht untersucht. Laut der USDA-Datenbank (USDA, 2007) enthalten Cranberrys einen Gesamtflavonolgehalt von 18,4 mg/ 100 g FG.

1.4.4 Phenolcarbonsäuren

Zu den Phenolcarbonsäuren gehören die in der Natur vorkommenden Hydroxyzimtsäuren und Hydroxybenzoesäuren sowie deren Derivate. Als Derivate existieren sie in Form von Estern mit anderen Säuren, Zuckern oder Alkoholen, Glykoside von decarboxylierten Säuren oder als acylierte Flavonoide (Sticher, 2010).

Hydroxyzimtsäuren findet man in nahezu allen höheren Pflanzen. In Abbildung 7 sind die in pflanzlichen Lebensmitteln am meisten anzutreffenden Verbindungen dargestellt (Crozier et al., 2009). Die häufigsten Verbindungen sind Hydroxyzimtsäureester mit Chinasäure. Im Pflan-

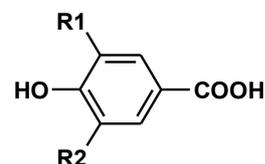


p-Cumarsäure	R1 = R2 = H
Kaffeesäure:	R1 = H; R2 = OH
Ferulasäure	R1 = H; R2 = OCH ₃
Sinapinsäure	R1 = R2 = OCH ₃

Abbildung 7: Struktur häufig vorkommender Hydroxyzimtsäuren

zenreich am weitesten verbreitet sind die fünf Stellungsisomere der Chlorogensäure. Es kommen auch andere Ester der Chinasäure, wie z.B. mit p-Cumarsäure oder Ferulasäure vor. Neben der Bindung mit Chinasäure werden in der Literatur aber auch die Glykoside unterschiedlicher Hydroxyzimtsäuren beschrieben. Glucose-Ester konnten bereits 1960 in nahezu 100 Pflanzenspezies gefunden werden (Harborne & Corner, 1961; Clifford, 1999).

Hydroxybenzoesäuren und deren Derivate treten, im Gegensatz zu den Hydroxyzimtsäuren, meist nur in geringen Mengen auf. In Abbildung 8 sind die am häufigsten vorkommenden Hydroxybenzoesäuren dargestellt (Mattila et al., 2006). Sie liegen in Früchten in freier Form vor, es wurden aber auch Glykoside gefunden (Tomás-Barberán & Clifford, 2000). Cranberrys enthalten natürlicherweise hohe Gehalte an Benzoesäure in gebundener und freier Form (Zuo et al., 2002).



4-Hydroxybenzoesäure: R1 = R2 = H
 Protocatechusäure: R1 = H; R2 = OH
 Vanillinsäure: R1 = H; R2 = OCH₃
 Syringasäure: R1 = R2 = OCH₃

Abbildung 8: Struktur häufig vorkommender Hydroxybenzoesäuren

1.4.5 Weitere ausgewählte Inhaltsstoffe

Iridoide sind Monoterpenderivate. Man findet sie in großer Anzahl in Pflanzen, in denen sie als Metaboliten im Sekundärstoffwechsel gebildet werden. Bei ihrem Grundgerüst handelt es sich um das Cyclopenta[c]pyran (Monoterpen). Ihr Name leitet sich von dem einfachsten Grundkörper, dem Iridodial (C₁₀H₁₆O₂) ab (s. Abbildung 9), das im Abwehrsekret von Ameisen entdeckt wurde. Iridoide kommen meist glykosidisch gebunden vor, da eine Glykosidierung zur Stabilisierung des Lactolrings führt. Durch die Bindung eines Zuckers werden sie hydrophil und können nicht nur in Ölzellen, sondern in allen Pflanzenorganen - von der Wurzel bis zum Samen - gespeichert werden. Durch ihre hydrophilen Eigenschaften können sie mit Wasser oder Methanol aus der Pflanze extrahiert werden, und gemeinsam mit den Flavonoiden analytisch erfasst werden. Das Iridoidmuster von Pflanzen ist artspezifisch und kann somit zur Identitätsprüfung genutzt werden. Iridoidhaltige Pflanzen werden schon seit Jahrhunderten unter anderem als Hustenmittel und zur Wundheilung eingesetzt (Sticher, 2010).

Jensen et al. (2002) untersuchte *Vaccinium*-Beeren auf bislang noch nicht identifizierte Komponenten, die aromaaktiv sind und möglicherweise auch zur biologischen Aktivität beitragen. Im Rahmen der Studie wurden erstmals die beiden C₁₀-Iridoidglykoside Monotropein

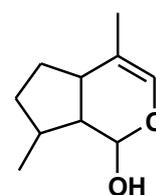


Abbildung 9: Lactolform des Iridodials

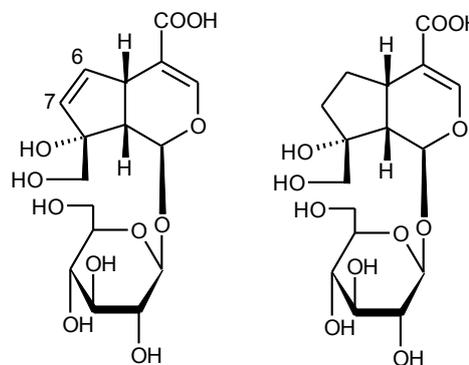


Abbildung 10: Struktur der bei Jensen et al. (2002) entdeckten Iridoide. Links: 6,7-Dihydromonotropein; Rechts: Monotropein

und 6,7-Dihydromontropein (s. Abbildung 10) in der hydrophilen Fraktion der Säfte von *V. macrocarpon*, *V. oxycoccus*, *V. vitis-idaea* und *V. myrtillus* identifiziert. Montropein wurde in allen untersuchten Spezies gefunden. 6,7-Dihydromontropein ließ sich in allen Beeren außer *V. myrtillus* detektieren. In weiteren Untersuchungen von Turner et al. (2007) wurden die beiden Iridoidglykoside mit p-Cumarsäure verestert identifiziert.

Stilbene gehören ebenfalls zu den nicht-flavonoiden Verbindungen. Sie weisen eine C₆-C₂-C₆-Grundstruktur auf. In der Pflanze fungieren sie als Phytoallexine bei Krankheiten, Verletzungen und Stress. Resveratrol ist das bekannteste Stilben. Wichtige Nahrungsquellen sind Rotwein und Erdnüsse, aber auch Beeren und manche Kräuter sowie Spinat mit geringeren Gehalten (Crozier et al., 2009). Resveratrol findet man in Früchten frei in *cis*- und *trans*-Form (s. Abbildung 11), aber auch glykosidisch gebunden, als Piceid (3-β-D-glucosid) (Lyons, et al., 2003).

Wang et al. (2002) erwähnten zum ersten Mal Resveratrol in Cranberrysaft. Es wurde eine Resveratrolkonzentration von 1,07 nmol/ g gemessen, die im ähnlichen Bereich wie die von Traubensaft mit 1,56 nmol/ g lag. Lyons et al. (2003) konnten Resveratrol auch in Heidelbeeren und Blaubeeren detektieren, jedoch waren die Gehalte geringer als die der Cranberry.

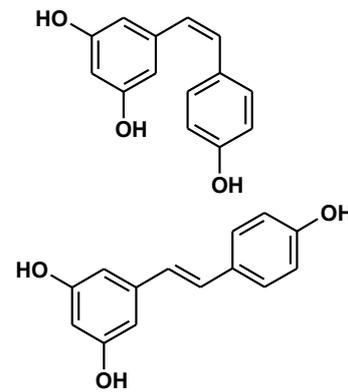


Abbildung 11: Struktur des *cis*- und *trans*-Resveratrols

1.5 Gesundheitsfördernde Eigenschaften

Im Allgemeinen werden Beeren auf Grund der zahlreichen phenolischen Inhaltstoffe viele gesundheitsfördernde Eigenschaften zugeschrieben. In den vergangenen Jahren ist durch die Vielzahl an Studien, insbesondere mit steigender Anzahl an Humanstudien, die Beweislage über die nachgesagten positiven Wirkungen von Beeren auf die Gesundheit immer eindeutiger geworden (Seeram, 2008).

1.5.1 Cranberrys

Mit Cranberrys werden zahlreiche positive Eigenschaften auf die Gesundheit assoziiert, die unter anderem auf ihren hohen Gehalt und die große Vielfalt an sekundären Pflanzeninhaltsstoffen zurückzuführen sind. Es werden Cranberrys folgende antipathogene Effekte nachgesagt (Pappas & Schaich, 2009):

- Prävention von Harnwegserkrankungen durch antiadhäsive Wirkung (Gupta et al., 2006; Jepson et al., 2004)
- Prävention von Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts (Zhang et al., 2005)
- Prävention von Karies und bakteriellen Infektionen im Mundraum (Feghali et al., 2012)
- Antimikrobielle Wirkung (Puupponen-Pimiä et al., 2005)
- Antivirale Wirkung (Lipson et al., 2007)

Des Weiteren werden Cranberrys auch positive Einflüsse auf degenerative Krankheiten und Erhalt von Funktionalität zugeschrieben:

- Unterstützung des kardiovaskulären Systems (McKay & Blumberg, 2007)
- Schutz vor Krebs (Neto et al., 2006)
- Antiinflammatorische Wirkung (Bodet et al., 2007)

Als Mechanismen für diese zahlreichen Wirkungen werden pathogene Wechselwirkungen, antioxidative Mechanismen sowie Einflüsse auf die Signaltransduktion, Proteinexpression und -aktivität diskutiert.

Der bekannteste und am meisten untersuchte Gesundheitsnutzen der Cranberry ist ihre präventive Wirkung gegen Harnwegserkrankungen (Pappas & Schaich, 2009).

1.5.2 Blau- und Heidelbeeren

Blau- und Heidelbeeren werden bereits seit langer Zeit von den Ureinwohnern Nordamerikas als Heilmittel und in Europa als Volksmedizin genutzt. Über den Verzehr von Blaubeeren und ihrem Einsatz als Heilmittel wurde erstmals von den Siedlern Nordamerikas berichtet. In Europa wurde das erste Mal im Mittelalter der medizinische Nutzen der Heidelbeere erwähnt. Beeren und Blätter werden in Europa als konventionelle Volksmedizin seit dem 16. Jahrhundert verwendet.

Heute ist der Einsatz der Beeren vielseitig und es gibt zahlreichen Präparate, dessen Wirkstoff die Anthocyane sind. Es werden den Beeren folgende Wirkungen nachgesagt (Kalt & Dufour, 1997; Chu et al., 2011):

- Antimikrobielle (Puupponen-Pimiä et al., 2005) und antiadhäsive Wirkung (z.B. zur Prävention von Harnwegserkrankungen) (Ofek et al., 1991)
- Antikarzinogene Wirkung (Bomser et al., 1996)
- Kardioprotektive Wirkung (Herz-Kreislauf-Erkrankungen) (Smith et al., 2000)
- Antioxidativ (Kalt et al., 2001)
- Antiinflammatorisch Wirkung
- Hypoglykämischer Effekt (bei Diabetes), Verbesserung der Sehfähigkeit und Schutz vor Augenerkrankungen (Ghosh & Konishi, 2007)
- Neuroprotektive Effekte (Demenz) (Krikorian et al., 2010)

1.5.3 Prävention von Harnwegserkrankungen

1.5.3.1 Infektionen des Urogenitaltraktes

Harnwegsinfektionen (HWI) sind bei Frauen eine der häufigsten bakteriellen Erkrankungen. 40-50% der Frauen erleiden in ihrem Leben mindestens einmal eine HWI, darunter sind schätzungsweise 20% der Frauen im Alter von 20-56 Jahren betroffen. Insgesamt liegt die Häufigkeit einer sogenannten akuten Zystitis zwischen 0,5-0,7% pro Person und pro Jahr. In einem von vier Fällen kommt es zu einem Rückfall (Franco, 2005). Die meisten Harnwegserkrankungen gelten als unkompliziert, d.h. sie sind auf die Harnröhre und Harnblase beschränkt. *Escherichia coli* (*E. coli*) ist das häufigste Uropathogen und in 80% der Fälle der Auslöser. In 10-15% wird *Staphylococcus saprophyticus* als Erreger identifiziert (Ronald, 2002).

Infektionen der unteren Harnwege sind relativ harmlos und können mit Antibiotika behandelt werden. Sie werden erst gefährlich wenn die Bakterien den Harnleiter aufsteigen und das Nierengewebe schädigen. Bei komplizierten Infektionen sind meistens *E. coli*-Stämme mit spezifischer uropathogener Virulenz beteiligt. Die Bakterien können sich mit Fimbrien fest im Gewebe verankern, wobei die Adhärenz durch die Lektine an deren Oberfläche bestimmt wird. Sie docken an komplementäre Kohlenhydrate im Gewebe an. Die Adhärenz ans Gewebe ist ein entscheidender Schritt für die Auslösung einer Infektion. Gelingt es die Anhaftung der Bakterien zu verhindern, wäre dies ein Ansatz für eine geeignete Therapie (Nowack, 2007).

Alle *E. coli*-Stämme können über Typ-1 Fimbrien am Gewebe andocken. Typ 1-Fimbrien werden auch als Mannose-sensibel bezeichnet. Es konnte in Laborversuchen gezeigt werden, dass die Adhärenz durch lösliche Kohlenhydrate, insbesondere Fructose, unterbunden werden kann. Es gibt jedoch *E. coli*-Stämme, die zusätzlich mit sogenannten p-Fimbrien ausgestattet sind. Sie sind imstande über Glycosphingolipide an die Membran von Nierenzellen zu binden, so ins Gewebe

einzudringen und eine rezidivierende Harnwegsinfektion auszulösen. Diese p-Fimbrien sind Mannose-resistent. Üblicherweise wird eine solche Infektion prophylaktisch mit einer Langzeiteinnahme von Antibiotika behandelt, was entsprechende Nebenwirkungen und steigende Resistenzen mit sich bringt. Die Phytotherapie bildet somit eine willkommene Alternative (Nowack, 2007; Nowack & Schmitt, 2008).

1.5.3.2 Wirkprinzip der Cranberry - bioaktive Inhaltsstoffe (Procyanidine) und deren Bioverfügbarkeit

Die Cranberry wird in der Volksheilkunde als eine Alternative für den Einsatz von Antibiotika genutzt. Lange glaubte man, dass diese Wirkung auf den hohen Gehalt an organischen Säuren zurückzuführen ist. 1923 entdeckten Blatherwick und Long (1923), dass in der Cranberry Benzoesäure enthalten ist, die über die Leber zur Hippursäure metabolisiert und über den Urin ausgeschieden wird. Nach ihrer Theorie wurde dadurch der Urin angesäuert und wirkte bakteriostatisch in den Harnwegen. Fellers et al. (1933) konnten auch organische Säuren, insbesondere Hippursäure sowie Wasserstoffionen und Ammoniak, nach Cranberrykonsum vermehrt im Urin detektieren. Die ausgeschiedene Menge an Hippursäure war zwar direkt proportional zum Gewicht der konsumierten Cranberrys, jedoch konnte kein Abfall des pH-Wertes festgestellt werden. Bodel et al. (1959) zeigten in einer späteren Studie ebenfalls, dass der pH-Wert nur minimal gesenkt wird und nicht genügend Hippursäure ausgeschieden wird, um eine bakteriostatische Wirkung hervorzurufen. Für die schützende Wirkung von Cranberrys kommt folglich nur ein anderer Mechanismus in Frage (Raz et al., 2004).

Im Jahre 1984 berichtete Sobota erstmals, dass die schützende Wirkung der Cranberry auf der Fähigkeit beruht, die Anhaftung von Bakterien zu verhindern. Er untersuchte 77 *E. coli*-Isolate. Die Isolate inkubierte er mit Urin von Mäusen nach Cranberrykonsum und konnte bei 75% eine Inhibition der Anheftung an Uroepithelzellen feststellen. Bei 15 von 22 humanen Urinproben konnte ebenfalls ein solcher Effekt gezeigt werden (Sobota, 1984). Auch in Folgeuntersuchungen wurde der antiadhärente Effekt bestätigt.

1989 gelang es Zafriri et al. in ihren Untersuchungen, zwei Inhaltsstoffe der Cranberry aufzuzeigen, die die Anheftung von *E. coli* verhindern. Fruktose inhibierte die Adhäsion von Mannose-sensitiven Typ-1 Fimbrien. Höher molekulare Inhaltsstoffe hemmen die Adhäsion der Mannose-resistenten p-Fimbrien (s. Abbildung 12, S. 26). Diese Fraktion wurde später von Howell et al. (1998) als Proanthocyanidine identifiziert.

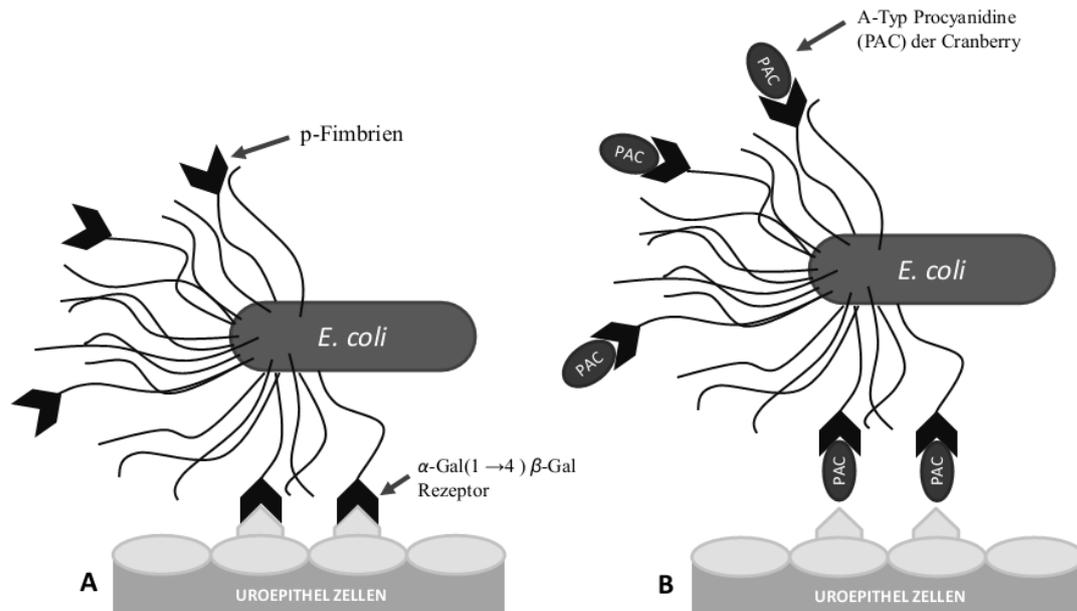


Abbildung 12: **A:** Anheftung von *E.coli* an die Uroepithelzellen durch Bindung der p-Fimbrien an die Glycoproteine und Glycosphingolipide der Zellmembran; **B:** Verhinderung der Anheftung von *E. coli* durch Cranberryprocyanidine

Im Jahr 2000 wurde in einer Reihe von Experimenten (Foo et al., 2000b; Foo et al., 2000a) *in vitro* die antiadhäsive Wirkung von Procyanidinen aus *Vaccinium macrocarpon* belegt. Neben den oligomeren (4-5 Monomere) und polymeren A-Typ-verknüpften Procyanidinen wurde auch bei A-Typ-Trimeren und einem -Dimer ein antiadhäsiver Effekt festgestellt. Dieser ist jedoch schwächer als bei den Oligomeren (Howell et al., 2005; Howell, 2002). Es konnte hierbei gezeigt werden, dass die antiadhäsive Wirkung an das spezielle biochemische A-Typ-Muster der Interflavanbindung gekoppelt ist. Der B-Typ hingegen weist diese Wirkung nicht auf (Howell et al., 2005). In Abbildung 13 ist die Struktur der drei A-Typ-Trimere und dem Dimer A2 dargestellt, die im Zuge der Studie isoliert und identifiziert wurden.

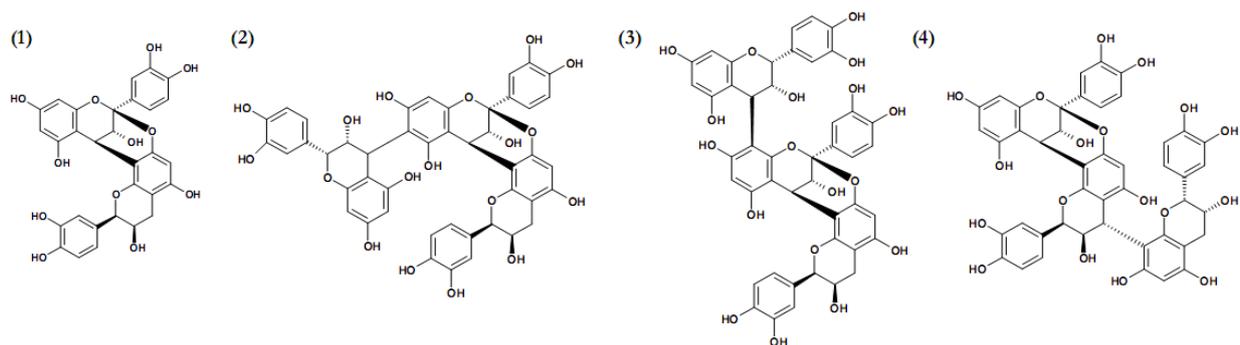


Abbildung 13: A-Typ-Procyanidine mit antiadhäsiver Wirkung (1) Epicatechin-(4β-8, 2β-O-7)-Epicatechin (Procyanidin A2), (2) Epicatechin-(4β-6)-Epicatechin-(4β-8, 2β-O-7)-Epicatechin, (3) Epicatechin-(4β-8)-Epicatechin-(4β-8, 2β-O-7)-Epicatechin, (4) Epicatechin-(4β-8, 2β-O-7)-Epicatechin-(4β-8)-Epicatechin

Nach einer Metaanalyse der „Cochrane database for systematic Reviews“, besteht ein klinischer Beweis, dass der Konsum von Cranberryprodukten im Vergleich zu einem Placebo die Anzahl an symptomatischen Harnwegserkrankungen über einen Zeitraum von 12 Monaten bei Frauen signifikant gesenkt hat (Jepson & Craig, 2008). Die „Cochrane database“ ist eine Datenbank der Cochrane Collaboration von klinischen Kontrollstudien. Sie bietet in Form von Reviews systematische Übersichtsarbeiten, in denen Studien zur Wirksamkeit und Eignung medizinischer Behandlungsmethoden untersucht und bewertet werden.

Bioverfügbarkeit

Ein wichtiger Aspekt für das Potential von Beeren ist die Bioverfügbarkeit der bioaktiven Inhaltsstoffe. Generell ist die Bioverfügbarkeit der Proanthocyanidine wenig erforscht und deshalb gibt es auch über A-Typ-Proanthocyanidine kaum Informationen. Dies ist in ihrer Analytik begründet. Durch fehlende Standards und mangelnde Reinheit der isolierten Fraktionen sowie der Vielzahl an Isomeren ist die Identifizierung und Quantifizierung erschwert. Zudem sind die Methoden für die Analytik im Plasma nicht sensitiv und spezifisch genug (Shoji et al., 2006).

Appeldoorn et al. (2009) untersuchten in einer Studie die Absorption von Proanthocyanidinen (Dimere, Trimere und Tetramere) im Dünndarm von Ratten. Die Absorptionsrate von A-Typ-Dimeren betrug im Vergleich zu der von Epicatechin nur ca. 5-10%. Im Gegensatz zu den Monomeren werden A-Typ-Dimere weder methyliert noch konjugiert, so dass ihre Struktur und damit biologische Aktivität erhalten bleibt. Eine Absorption von A-Typ-Trimere wurde in dieser Studie nicht beobachtet. Die Anwesenheit von Tetrameren erhöht die Absorption von Dimer B2, aber nicht die von A1.

In einer Studie von Shoji et al. (2006) wurde die Bioverfügbarkeit von Apfelprocyanidinen in Rattenplasma untersucht. Generell werden Proanthocyanidine mit niedrigerem Molekulargewicht leichter absorbiert. Höhermolekulare Procyanidine (> Octamer) werden selbst nicht absorbiert, beeinflussen aber die Absorption der Oligomere. Diese Procyanidine binden an die Proteine der Schleimhaut des Verdauungstraktes. Ebenfalls wie bei Appeldoorn et al. (2009) konnten unmodifizierte Dimere in Rattenplasma detektiert werden. Jedoch wurde weder Epicatechin noch dessen Metabolite im Plasma gefunden.

Ou et al. (2012) erforschten an humanen intestinalen Caco-2-Zellen die Absorption von Dimer A2, A-Typ-Trimeren und -Tetrameren aus Cranberrys. In Übereinstimmung zu den Ergebnissen von Appeldoorn et al. (2009) wurden A2 sowie das Trimer und Tetramer unmodifiziert über Permeation oder Diffusion durch die Caco-2-Zellen transportiert. Auch wenn die Transportraten gering sind, ist folglich anzunehmen, dass A-Typ-Procyanidin-Dimere, -Trimere, und -Tetramere nach Cranberrykonsum für den Menschen bioverfügbar sind. Ein Transport durch die Caco-2-Zellen wurde für die B-Typ Proanthocyanidine (B2, C3) bereits in der Studie von Déprez et al. (2001) gezeigt. Polymere Proanthocyanidine wurden nicht absorbiert, lediglich deren Abbauprodukte (Ou et al., 2012). Diese tragen möglicherweise auch zu den putativen

gesundheitsfördernden Effekten proanthocyanidinreicher Lebensmittel bei (Rasmussen et al., 2005).

Anhand eines Schweine-Caecum-Modells untersuchten Engemann et al. (2012) den Katabolismus von Procyanidinen im Darm. Mit A2 und Cinnamtannin C1 konnte anhand der Metabolite demonstriert werden, dass sie in der Darmflora abgebaut werden. Es ist jedoch noch unklar, welche biologische Aktivität die Metabolite aufweisen, da sie auf ihrem Weg durch den Gastrointestinaltrakt lediglich in geringen Mengen absorbiert werden.

Déprez et al. (2000) erforschten anhand von ^{14}C -markierten polymeren Proanthocyanidinen den Metabolismus durch die humane Darmflora. In ihrer Studie wurde gezeigt, dass die Proanthocyanidine durch die Darmflora zu aromatischen Säuren abgebaut werden, wobei eine Spaltung zu Monomeren und Oligomeren auch bereits im Magen möglich ist.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass es weiterhin Forschungsbedarf zum Metabolismus und zur Bioverfügbarkeit von Proanthocyanidinen gibt (Howell, 2002).

2 Ergebnisse und Diskussion

2.1 Unterscheidung verschiedener *Vaccinium*-Spezies und Bestimmung der Authentizität anhand von Polyphenolprofilen

Um die Authentizität der *Vaccinium*-Spezies zu bestimmen und eine Möglichkeit zu bieten, eine Verfälschung zu detektieren, bedarf es zunächst einer umfassenden Kenntnis der phenolischen Inhaltsstoffe. Hierzu wurden jeweils die Profile der verschiedenen Verbindungsklassen der Spezies ermittelt, nach Möglichkeit die Substanzen identifiziert und die Unterschiede zwischen den Profilen der Beeren herausgestellt. Die Spezies, die im Zuge dieser Arbeit untersucht wurden, gehören nicht nur botanisch zu derselben Familie, sondern weisen sehr viele qualitative und sensorische Ähnlichkeiten auf. Auf Grund der geschmacklichen Ähnlichkeiten ist ein Ersatz z.B. der Cranberry durch eine der beiden anderen *Vaccinium*-Spezies gut möglich und durch eine Falschdeklaration als Cranberry kann sich der Hersteller durch eine kostengünstigere Produktion einen preislichen Vorteil verschaffen.

Aufgrund einer Anfrage der Fruchtsaftindustrie sollte die Möglichkeit der Unterscheidung der einzelnen *Vaccinium*-Beeren und deren Authentizität geklärt werden. Hierbei sollte geprüft werden, inwiefern sich die Moosbeere, die Cranberry und die Preiselbeere unterscheiden. In Analogie zu Cranberry, Moosbeere und Preiselbeere sollten ebenfalls Unterscheidungsmerkmale zu Blaubeeren (*V. corymbosum* und *V. angustifolium*) und heimischen Wildheidelbeeren (*V. myrtillus*) erarbeitet werden.

Berücksichtigung unterschiedlicher Sorten:

Um eine Sortenabhängigkeit und daraus resultierende Schwankungen der phenolischen Inhaltsstoffe bei der Authentizitätsbestimmung ausschließen zu können, wurden auch sortenreine Cranberrys miteinander verglichen (s. Tabelle 28, S. 120).

Für Moosbeeren, Preiselbeeren, Heidelbeeren und Blaubeeren stand keine sortenreine Ware zu Verfügung. Von der Fruchtsaftindustrie wurden aber authentische Beeren bereitgestellt und zusätzlich unterschiedliche Beeren im Supermarkt erworben.

Berücksichtigung unterschiedlicher Jahrgänge und Standorte:

Neben der Varietät können auch unterschiedliche Umweltbedingungen, wie z.B. Temperatur, CO₂-Gehalt und die Zusammensetzung des Bodens die Polyphenolgehalte in Beeren maßgeblich beeinflussen. Eine Studie über Erdbeeren zeigte, dass unterschiedliche Standorte sowie Jahrgänge Einfluss auf das Polyphenolprofil haben können (Anttonen & Karjalainen, 2005). Folglich wurden auch verschiedene Standorte (Polen, China, Amerika, Kanada, Deutschland) und unterschiedliche Jahrgänge analysiert. Da sortenreine Cranberrys unterschiedlicher Jahrgänge nicht zur Verfügung standen, wurden Beeren unbekannter Sorte und entsprechendem Jahrgang aus dem Einzelhandel bezogen.

2.2 Analytik von Polyphenolen

Aufgrund der Vielfältigkeit von Polyphenolen ist der Einsatz chromatographischer und spektrometrischer Methoden für ihre Analytik essentiell. Der erste Schritt ist die Extraktion der phenolischen Inhaltsstoffe aus dem Probenmaterial. Hierbei werden für die verschiedenen Gruppen der Polyphenole je nach ihren Eigenschaften unterschiedliche Lösungsmittel zur Extraktion eingesetzt. Ein weiterer wichtiger Schritt ist die Abtrennung von Matrixbestandteilen (z.B. Zucker, Salze, nicht-phenolische Säuren) und die Aufkonzentrierung der Analyten. Polyphenole stellen in der Pflanze Minorkomponenten dar und müssen daher vor der Analytik zunächst angereichert werden. Da auch die Anthocyane die Chromatographie der anderen phenolischen Inhaltsstoffe stören, werden sie ebenfalls abgetrennt. Ihre Analytik erfolgt in einer separaten Methode.

Zur chromatographischen Auftrennung, Quantifizierung und Identifizierung wurde in dieser Arbeit die Kopplung einer UHPLC oder HPLC-UV/DAD mit einem Massenspektrometer (MS) zur Analytik eingesetzt. Polyphenole, wie z.B. die Proanthocyanidine, die sich schlecht anhand der UV-Detektion erfassen lassen, wurden mit einem Triple-Quadrupol-MS quantifiziert. Zur Identifizierung wurde ein Ionenfallenmassenspektrometer genutzt.

2.2.1 Probenvorbereitung

Aus Beeren und daraus hergestellten Produkten mussten die Analyten zunächst extrahiert werden. Für Fruchtsäfte und ähnlich flüssige Proben war dieser Schritt nicht notwendig.

Vor der Extraktion wurden die Beeren zunächst gefriergetrocknet und anschließend mit einer Kugelmühle zu einem feinen homogenen Pulver vermahlen. Die Extraktion der Polyphenole aus den Beeren erfolgte mittels beschleunigter Lösungsmittlextraktion (PLE). Die PLE hat sich bereits mehrfach als geeignetes Extraktionsverfahren für Polyphenole aus Früchten bewährt (Escribano-Bailón & Santos-Buelga, 2003) und bietet durch die Automatisierung eine gute Wiederholbarkeit (Papagiannopoulos & Mellenthin, 2002). Zur Anreicherung der Analyten und Abtrennung der Matrix, wurde im Anschluss an die Extraktion eine automatisierte Festphasenextraktion durchgeführt.

2.2.1.1 Extraktion mit automatisierter beschleunigter Lösungsmittlextraktion

Für die Extraktion wurden zunächst grundlegende Parameter in Anlehnung an bereits optimierte Methoden von Wollseifen (2009) festgelegt und weitere Parameter hinsichtlich der Cranberry optimiert.

Auswahl des Extraktionsmittels

Für die Extraktion der Proanthocyanidine eignet sich ein Aceton-Wassergemisch. Als optimale Mischung wird in der Regel Aceton/ Wasser 70 + 30 (v + v) verwendet (Rzeppa et al., 2011; Prior & Gu, 2005; Gu et al., 2003b). Da dieses bereits als geeignetes Gemisch für Procyanidine in *Vaccinium*-Spezies beschrieben ist, wurde es auch im weiteren Verlauf der Arbeit zur Extraktion der Procyanidine verwendet (Prior et al., 2001; Gu et al., 2002).

Zur Extraktion von phenolischen Säuren und Flavonoiden, wie Flavone, Flavonole und Catechine aus Früchten, sind in der Literatur als geeignete Extraktionsmittel Methanol/ Wasser-Gemische beschrieben. Je nach Löslichkeiten der Analyten ist der Wasseranteil unterschiedlich (Escribano-Bailón & Santos-Buelga, 2003). Zur Extraktion der Flavonole, Phenolcarbonsäuren und Iridoide wurde der optimale Wasseranteil durch eine Extraktion mit unterschiedlichen prozentualen Methanolanteilen von 0-100% getestet. Die optimalen Extraktionsergebnisse wurden anhand der Peakflächen im UV von verschiedenen phenolischen Verbindungen ermittelt. In Abbildung 14 sind die Peakflächen einzelner Verbindungen in Abhängigkeit des prozentualen Anteils an Methanol im Extraktionsmittel dargestellt. Bei 70% Methanol wurde die größte Extraktionsausbeute erzielt, weshalb im weiteren Verlauf der Arbeit mit Methanol/ Wasser 70 + 30 (v + v) gearbeitet wurde.

Die Extraktion der Anthocyane erfolgte analog zu der Methode von Wu und Prior (2005). Als Extraktionsmittel hat sich Methanol/ Wasser/ Essigsäure 85 + 15 + 0,5 (v + v + v) bewährt.

Einfluss der Temperatur

In weiteren Versuchen wurde der Einfluss der Temperatur auf die Extraktionsausbeute untersucht. In der Regel kann mit steigender Temperatur die Extraktionsleistung verbessert werden. Durch den Einsatz von Stickstoff und Drücken bis zu 199 bar in der PLE kann weitestgehend sauerstofffrei und auch bei Temperaturen über dem Siedepunkt des Lösungsmittels gearbeitet werden. Die thermische Stabilität der Analyten ist hierbei jedoch ein limitierender Faktor. Um den Einfluss der Temperatur zu testen, wurde die PLE bei Temperaturen von 20-100 °C durchgeführt. Anschließend wurden die Peakflächen der Analyten verglichen.

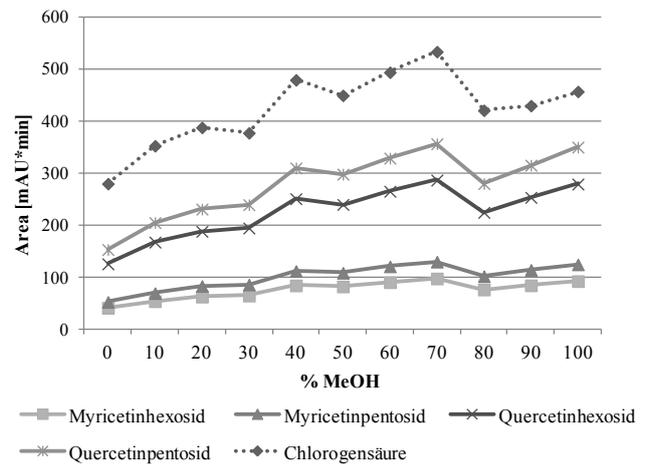


Abbildung 14: Extraktionsausbeute verschiedener Analyten nach Extraktion mit unterschiedlichem Methanolanteil

Bei der Extraktion der Proanthocyanidine wurden die Peakflächen unterschiedlicher Procyanidine im MS verglichen. Abbildung 15 zeigt die Extraktionsausbeute verschiedener Flavanole in Abhängigkeit von der Temperatur. Es konnte festgestellt werden, dass durch eine Erhöhung der Temperatur die Extraktionsausbeute der Procyanidine nicht maßgeblich verbessert wurde. Ab Temperaturen von ca. 70-80 °C deutete sich ein thermischer Abbau an, so dass im weiteren Verlauf der Arbeit bei Raumtemperatur gearbeitet wurde.

Analog zu den Procyanidinen wurde auch bei den Flavonolen, phenolischen Säuren und Cumaroyliridoidglykosiden keine Verbesserung der Extraktionsausbeute mit Erhöhung der Temperatur festgestellt.

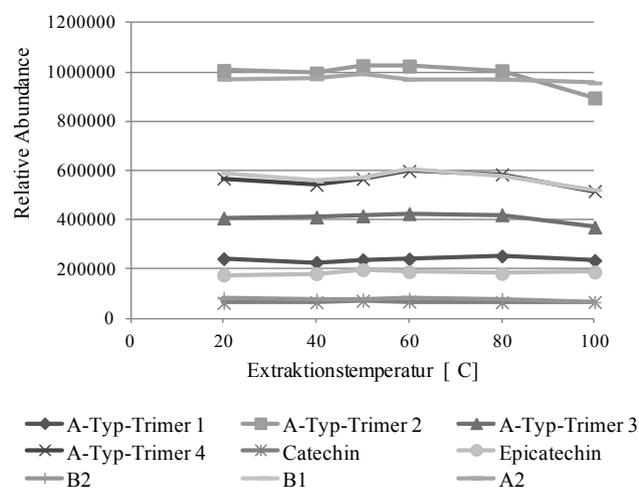


Abbildung 15: Extraktionsausbeute verschiedener Flavanole bei unterschiedlicher Temperatur

2.2.1.2 Aufreinigung und Anreicherung von Polyphenolen mittels automatisierter Festphasenextraktion

Die Festphasenextraktion (SPE) wurde mittels eines Pipettierroboters ASPEC XLI (Automated Sample Preparation with Extraction Cartridges) automatisch durchgeführt. Durch eine Automatisierung ist eine gute Wiederholbarkeit gegeben. Die SPE wurde in dieser Arbeit sowohl mit flüssigen Proben als auch mit den Extrakten von festen Proben durchgeführt.

Für die Festphasenextraktion von Polyphenolen wurden in der Literatur bereits zahlreiche Methoden mit unterschiedlichen Kartuschenmaterialien und Elutionsmitteln beschrieben (Garcia-Salas et al., 2010). Je nach Fragestellung müssen die einzelnen Parameter optimiert und der individuellen Matrix angepasst werden.

Wahl des Kartuschenmaterials

Es wurden verschiedene übliche RP-Kartuschenmaterialien, wie Polyamid, C18 und HRX getestet. Hierbei werden auch die in den Beeren und Säften enthaltenen Anthocyane angereichert und es treten störende Überlagerungen im Chromatogramm auf. Bei den C18- und den HR-X-Kartuschen kommt es zur höchsten Aufkonzentrierung der Anthocyane und somit zur größten Überlagerung im Chromatogramm. Bei den Polyamidkartuschen werden die Anthocyane ebenfalls aufkonzentriert. Keine dieser Kartuschen ist somit ohne vorherige Abtrennung der Anthocyane geeignet.

Um die Anthocyane, ohne einen zusätzlichen Schritt in der Probenvorbereitung abzutrennen, wurde eine Kombination aus einer RP-Phase mit einem Ionentauscher genutzt. Da sich HR-X als geeignetes Kartuschenmaterial zur Aufkonzentrierung der Polyphenole eignet, wurden eine Multimodekartusche HR-XC, bestehend aus HR-X-Material und einem Kationentauscher, verwendet. Das Basismaterial (HR-X) der Kartusche ist ein Polystyrol-Divinylbenzol-Copolymer, das als RP-Phase fungiert. Bei dem Kationentauscher (C) handelt es sich um Benzolsulfonsäure. Mit Hilfe der RP-Phase können die Flavonoide und Phenolcarbonsäuren aufkonzentriert werden, wohingegen die Anthocyane am Ionentauscher gebunden bleiben und somit abgetrennt werden können. Hierzu müssen die Anthocyane positiv geladen sein, d.h. als Flavyliumkation vorliegen, was bedeutet, dass ein saurer pH-Wert gegeben sein muss (s. Abbildung 16). Bei Cranberry-, Preiselbeer- und Moosbeersäften liegt der pH-Wert von Natur aus bei 2-3. Bei Heidelbeersäften ist der pH-Wert etwas höher. Zur Stabilität der Extrakte wurden deshalb die Proben zuvor angesäuert, um sicher zu gehen, dass das Gleichgewicht zu Gunsten des Flavyliumkations verschoben ist.

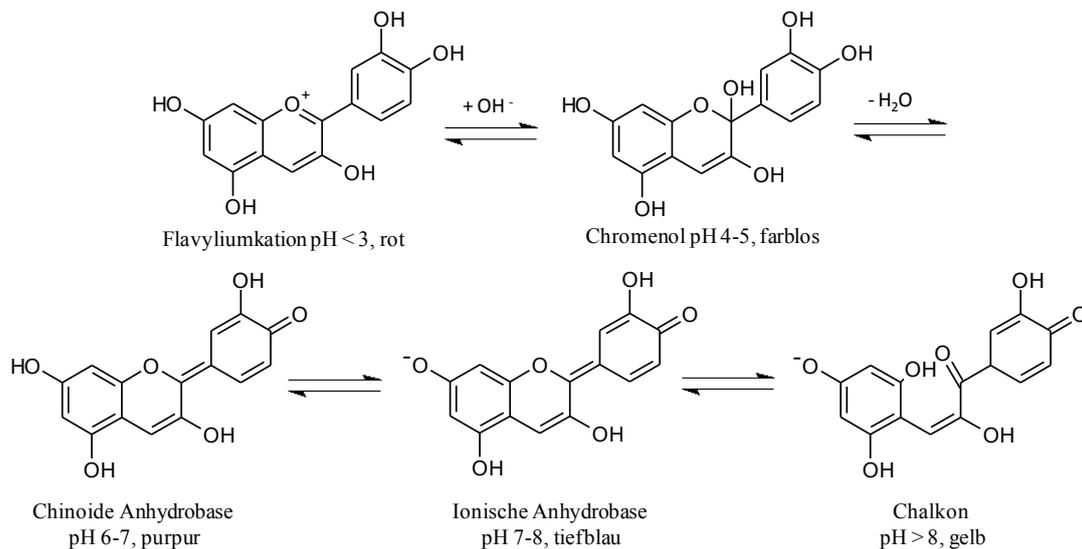


Abbildung 16: Abhängigkeit der Struktur der Anthocyane vom pH-Wert (He & Giusti, 2010)

Abbildung 17 (S. 34) zeigt ein Chromatogramm eines Heidelbeersaftes, der einmal mit und einmal ohne Ionentauscher in der Kartusche aufgearbeitet wurde. Bei 280 nm ist im Chromatogramm des SPE-Eluates ohne Ionentauscher ein „Berg“ sichtbar. Bei 520 nm wird deutlich, dass diese Peaküberlagerung durch die Anthocyane verursacht wird. Eine Trennung der unterschiedlichen Analyten ist in diesem Bereich folglich nicht möglich. Im zweiten Chromatogramm ist der Effekt der Abtrennung der Anthocyane deutlich sichtbar und die Identifizierung der Polyphenole sowie die Integration der Peaks für eine Quantifizierung werden ermöglicht.

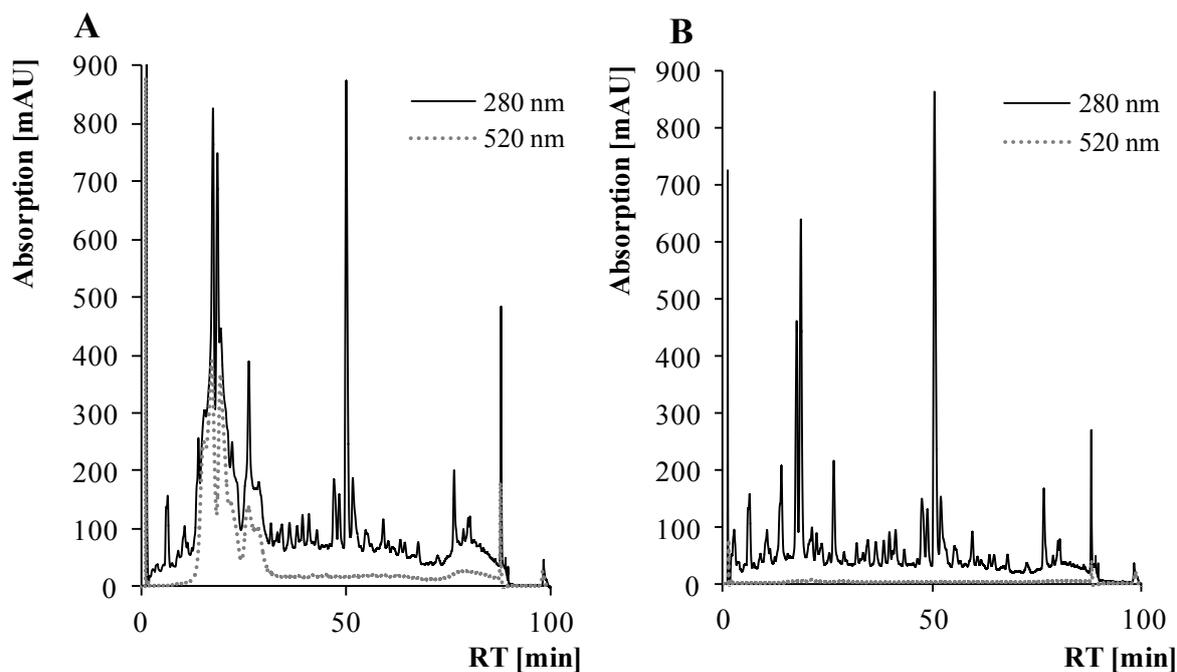


Abbildung 17: Chromatogramme eines Heidelbeersaft-SPE-Eluats bei 280 nm und 520 nm ohne (A) und mit (B) Ionentauscher in der Kartusche aufgearbeitet

In weiteren Versuchen wurde geprüft, ob eine Elution der Anthocyane, und damit eine Separation und Anreicherung möglich ist. In der Herstellerapplikation wird eine Elution der am Ionentauscher gebundenen Analyten mit einer starken Base beschrieben. Im Basischen sind die Anthocyane jedoch wenig stabil. Wie Abbildung 16 zeigt, bilden sich bei einem pH-Wert > 8 Chalkone, welche über die Umlagerung zum Diketon, weiter zu Phenolcarbonsäuren und Aldehyden abgebaut werden können (Seeram et al., 2001; Markakis, 1974). Da die Anthocyane in den Beeren in hoher Konzentration enthalten sind und nicht aufkonzentriert werden müssen, wurden keine weiteren Versuche zur Aufkonzentrierung der Anthocyane durch die Elution von der Kartusche durchgeführt.

Festlegung des Auftragsvolumens der Probe

Als Auftragsvolumen für Muttersaft haben sich 20 mL des 1:1 verdünnten zentrifugierten Saftes bewährt. Hierbei kam es zu keiner Überladung des Kartuschenmaterials und für den größten Peak lag die Absorption bei 900 mAU, womit eine ausreichende Aufkonzentrierung gewährleistet war.

Für die Extrakte der Beeren wurde ein anderes Auftragsvolumen gewählt, da der organische Anteil minimiert werden muss, damit die Probenlösung selbst möglichst keine Elutionskraft hat, und es nicht zu einem Durchbruch der Analyten kommt. Hierzu wurde zunächst der Lösungsmittelanteil der Beerenextrakte im Stickstoffstrom entfernt. Anschließend wurde auf ein definiertes Volumen (30 mL) mit Wasser aufgefüllt und der Extrakt in zwei Schritten auf die Kartusche aufgetragen.

Wahl des Elutionsmittels

In einer Applikation des Herstellers Macherey-Nagel zu den HR-XC-Kartuschen wird als Elutionsmittel 100% Methanol empfohlen. Auf Grund der Flüchtigkeit von Methanol ist allerdings die Handhabung in der Probenaufarbeitung erschwert, weshalb getestet wurde, ob Dimethylsulfoxid (DMSO) als Alternative verwendet werden kann. Es wurde kein Unterschied festgestellt, außer bei den Phenolcarbonsäuren, die bei der Verwendung von DMSO minimal besser eluiert wurden. Deshalb wurde DMSO als Elutionsmittel ausgewählt.

Festlegung des Elutionsvolumen

Das Elutionsverhalten der Analyten wurde mit Hilfe einer fraktionierten Elution überprüft. Hierzu wurde in kleinen Schritten mit definiertem Volumen eluiert und anschließend wurden die einzelnen Fraktionen mit der HPLC vermessen. Anhand der erhaltenen Chromatogramme (s. Abbildung 18) kann der Elutionsverlauf der Polyphenole verfolgt werden und damit das ideale Elutionsvolumen und gegebenenfalls ein Waschschrift festgelegt werden, um eine Verdünnung zu vermeiden. Die erste Fraktion (0,5 mL) enthält keine Polyphenole und kann daher in einem Waschschrift verworfen werden. In den nächsten drei Fraktionen (je 1 mL) sind die Analyten enthalten. In Fraktion 4 und 5 ist lediglich ein kleiner Peak zu sehen, weshalb ein Elutionsvolumen von 3 mL als ausreichend erachtet wurde.

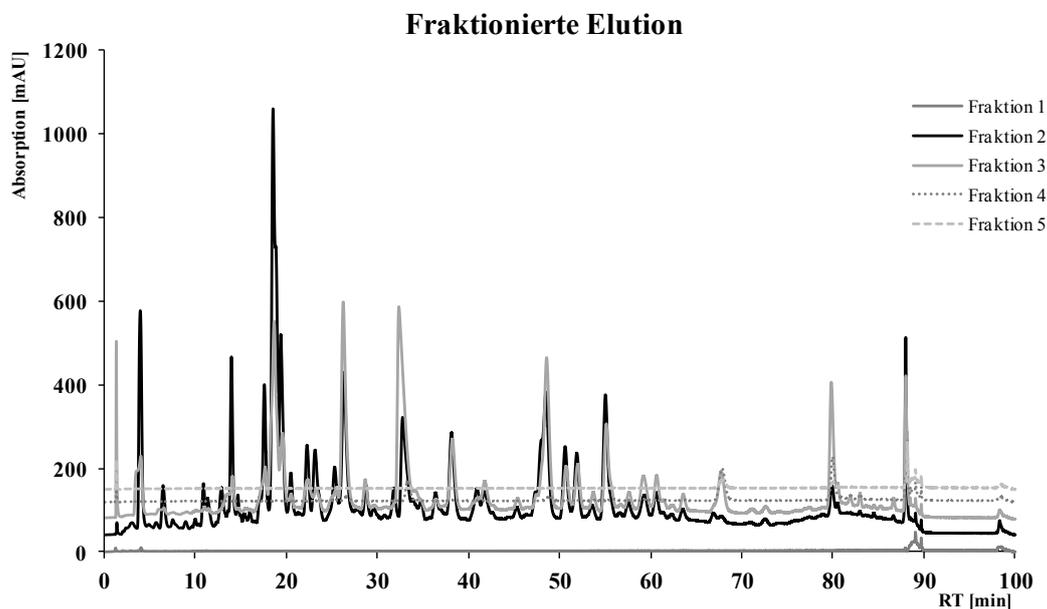


Abbildung 18: Elutionsverlauf von Cranberrysaft auf HR-XC-Kartuschen, Fraktion 1 = 0,5 mL; Fraktion 2-5 = 1 mL

Überprüfung der Aufkonzentrierung der Analyten anhand von Muttersaft

Um überprüfen zu können, ob die SPE-Kartusche die Analyten entsprechend aufkonzentriert, erfolgt der Vergleich eines HPLC-Chromatogrammes eines Saftes mit und ohne vorheriger SPE (s. Abbildung 19, S. 36). Da nicht für alle phenolischen

Verbindungen Standards zu Verfügung stehen, bietet dies eine Möglichkeit, die Wiederfindung der Analyten zu prüfen.

Anhand des Vergleichs der Chromatogramme kann somit festgestellt werden, ob eine Aufkonzentrierung der Analyten erfolgt, möglicherweise etwas an der Kartusche gebunden bleibt oder (teilweise) durchbricht. Beim Vergleich der Chromatogramme ist eine Aufkonzentrierung der Analyten von etwa einem Faktor 3 sichtbar. Bei einem Probenauftragsvolumen von 10 mL und einer Elution mit 3 mL, kann folglich davon ausgegangen werden, dass die Kartusche für die Analyten geeignet ist.

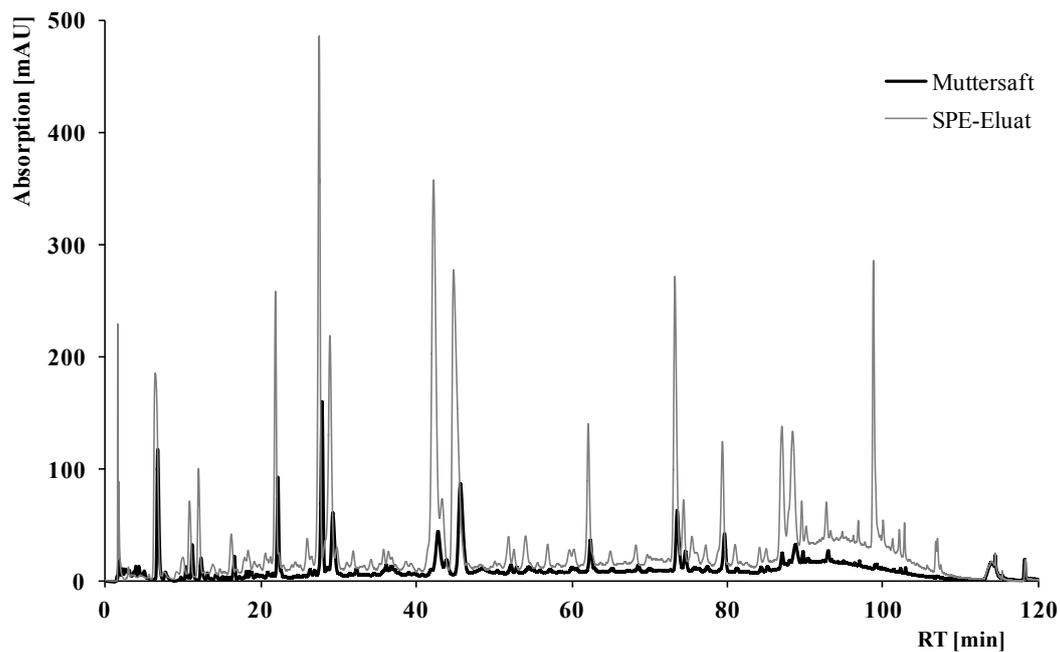


Abbildung 19: Vergleich der HPLC-Chromatogramme eines Cranberrymuttersaftes vor und nach der Festphasenextraktion bei 280 nm

Weitere Parameter

Auf die Optimierung von weiteren Parametern, wie z.B. die Auftrags- und Elutionsgeschwindigkeit sowie die Dauer der Konditionierung wurde verzichtet. Diese konnten aus bereits etablierten Methoden mit der entsprechenden Kartuschengröße übernommen werden, da sie die Methode nicht maßgeblich beeinflussen (Papagiannopoulos, 2008).

2.2.1.3 Zuordnung und Quantifizierung der Polyphenole mittels LC-MS

Zur Identifizierung der Polyphenole wurden zunächst die Daten der UV/ VIS-Detektion (DAD-UV-Spektren) herangezogen, um die Peaks anhand ihrer charakteristischen Absorptionsmaxima (λ_{\max}) in die verschiedenen Substanzgruppen einordnen zu können (s. Tabelle 3). Je nach Substitutionsmuster und Glykosylierung verschieben sich die Absorptionsmaxima (Engelhardt & Galensa, 1997; Santos-Buelga et al., 2003).

Tabelle 3: Charakteristische Absorptionsmaxima unterschiedlicher phenolischer Verbindungsgruppen

Substanzgruppe	Absorptionsmaxima λ_{\max} [nm]
Flavanone und Procyanidine	230, 280
Hydroxyzimtsäurederivate	230-240, 300-330
Benzoessäurederivate	260-290
Flavonole	250-295, 310-370
Anthocyane	240-285, 460-560

Im Gegensatz zu einem Quadrupol oder Tandem-Massenspektrometer können in einer Ionenfalle gezielt Molekülionen gesammelt, fragmentiert und deren Produktionen erneut isoliert und fragmentiert werden (MS^n). Anhand der Fragmentierungsmuster der gesammelten Molekülionen und Produktionen können Aussagen über die Struktur der Polyphenole getroffen werden. Die auftretenden Molekülionen sowie die sich ergebenden Differenzen (Neutral Loss) und Fragmentierungsmuster im MS^2 - bzw. MS^3 -Experiment können durch einen Vergleich mit Literatur und authentischen Standards zur Identifizierung genutzt werden. Hierbei können Aussagen, wie z.B. über den Typ des Flavonoidaglykons, die Substituenten am Aglykon, die gebundenen Zucker (Hexose, Pentose, Desoxyhexose) oder anderen Reste (z.B. Säuren), sowie die Art der intermolekularen Verknüpfung von Aglykonen (A-Typ- bzw. B-Typ-verknüpft) getroffen werden. In einer Scan-Methode können alle enthaltenen phenolischen Verbindungen in einem chromatographischen Lauf erfasst werden. Zudem ermöglicht die Software auch einzelne Massenspuren zu extrahieren. Dadurch können die Beeren gut miteinander verglichen und Unterschiede in den Polyphenolprofilen aufgezeigt werden.

Die Ionisierung der Analyten erfolgt mittels Electrospray Ionisation (ESI). Die ESI ist besonders für thermolabile, nicht-flüchtige polare Verbindungen geeignet (Friedrich et al., 2000). Es können sowohl positive Ionen $[M+H]^+$ als auch negative $[M-H]^-$ erzeugt werden und damit unterschiedliche Fragestellungen bearbeitet werden. Abgesehen von den Anthocyanen, die schon eine positive Ladung aufweisen, werden phenolische Verbindungen bevorzugt im negativen Ionisierungsmodus gemessen, da sie sich aufgrund ihrer Struktur besser deprotonieren als protonieren lassen. In einer Studie von Sun und Miller (2003) wurden beide Ionisierungsmodi für Flavonoide

verglichen, wobei sich die negative Ionisierung als sensitiver und selektiver herausgestellt hat, da es zu weniger Untergrundrauschen kommt.

Vaccinium-Spezies weisen eine Vielzahl an Polyphenolen auf, was die Quantifizierung von einzelnen Verbindungen erschwert (Häkkinen et al., 1999a). Besonders Proanthocyanidine lassen sich nur schwer im UV detektieren, da es mit vielen verschiedenen Verbindungen bei ihrem Absorptionsmaximum von 280 nm zu Überlagerungen kommt. Eine Quantifizierung und Identifizierung der Proanthocyanidine durch Kopplung von UHPLC oder HPLC mit einem massenspektrometrischen Detektor ist bereits als eine geeignete Methode für unterschiedliche Matrices in der Literatur beschrieben (Ortega et al., 2010; Gu et al., 2003b; Gu et al., 2004).

In den hier durchgeführten Untersuchungen erfolgte die Quantifizierung einzelner Procyanidine an einer UHPLC gekoppelt mit einem Triple-Quadrupol-Massenspektrometer. Da neben den höhermolekularen A-Typ-Procyanidinen, insbesondere Trimere sowie Procyanidin A2 eine antiadhäsive Wirkung zeigen (Foo et al., 2000a), wurde diesbezüglich eine Quantifizierung und ein Vergleich der Beeren vorgenommen. Hierbei wurden die Unterschiede der drei Beeren herausgestellt. Sie könnten für weitere Studien bezüglich der Prävention gegen Harnwegserkrankungen von Bedeutung sein.

Zur Einstellung der zur Quantifizierung optimalen Parameter im MS wurde zunächst ein Tuning mit Procyanidin A2 durchgeführt (Parameter siehe Material und Methoden). Zur Quantifizierung der Procyanidine wurden die Übergänge, entsprechend ihrer charakteristischen Fragmente, im Selected Reaction Monitoring (SRM) gemessen (s. Tabelle 4).

Tabelle 4: Im SRM-Modus gemessene Übergänge unterschiedlicher Flavan-3-ole

Analyt	Übergänge im SRM
Monomer $m/z = 289$	$m/z 289 \rightarrow m/z 245$
Dimer (B-Typ) $m/z = 577$	$m/z 577 \rightarrow m/z 449$
Dimer (A-Typ) $m/z = 575$	$m/z 575 \rightarrow m/z 449$
Trimer (B-Typ) $m/z = 865$	$m/z 865 \rightarrow m/z 577$
Trimer (A-Typ) $m/z = 863$	$m/z 863 \rightarrow m/z 575$ $m/z 863 \rightarrow m/z 573$

Externe Kalibriergeraden von Procyanidin A2 sowie Catechin und Epicatechin wurden zur Berechnung der Konzentrationen herangezogen. Um Matrixeffekte zu berücksichtigen wurde Procyanidin A2 zu einer Blankmatrix dotiert. Hierzu wurde ein Extrakt aus Himbeere (*Rubus idaeus*) analog zu dem der Proben hergestellt und mit Procyanidin A2 im Bereich von 0,5-70 µg/ mL dotiert. Für Catechin und Epicatechin wurde darauf verzichtet, da diese beiden Verbindungen in der Himbeere ebenfalls

vorkommen. Die Erstellung dieser Kalibriergeraden erfolgte mit DMSO. Alle Extrakte wurden in Doppelbestimmungen vermessen.

Die Anthocyane, Flavonole, Phenolcarbonsäuren sowie deren Derivate lassen sich über ihre charakteristischen Absorptionsmaxima mittels HPLC-UV quantifizieren. Für eine Quantifizierung ist eine Basislinientrennung der einzelnen Peaks notwendig. Durch die große Anzahl an Verbindungen in den *Vaccinium*-Spezies ist eine perfekte Trennung aller Substanzen in einem Chromatogramm kaum möglich. Die am Markt erhältlichen RP-HPLC-Säulen bieten hierbei für verschiedene Fragestellungen unterschiedlich gute Trennungen. Im Rahmen dieser Arbeit wurden folgende RP-18 HPLC-Säulen getestet: Aqua (Phenomenex), Isis (Macherey-Nagel), Polartec (Macherey-Nagel) und Zorbax (Agilent) (Chromatogramme siehe Abbildung 47-51 im Anhang, S. 133-136). Mit einer Aqua- und einer Isis-Säule konnten gute Ergebnisse erzielt werden. Mit dem verwendeten Gradienten und Fließmittelsystem konnten in 120 min viele der Polyphenole getrennt werden. Die Vorversuche sind größtenteils mit der Isis-Säule durchgeführt worden. Weitere Analysen erfolgten im Verlauf der Arbeit zumeist mit einer Aqua-Säule.

Da Anthocyane aufgrund ihrer Struktur (s. Abbildung 16, S. 33) für die Analytik in einer definierten Form vorliegen sollten, um eine Peakverbreiterung zu vermeiden, benötigt man für die Messung einen sehr niedrigen pH-Wert. Bei der Auswahl der HPLC-Säule ist folglich nicht nur eine ausreichend gute Trennung zu beachten, sondern auch eine HPLC-Säule zu verwenden, die bis zu pH 1 stabil ist. Insbesondere ist dies bei der Heidelbeere zu berücksichtigen, da sie ein breites Spektrum an Anthocyanen aufweist und eine Peakverbreiterung eine vollständige Trennung nicht mehr möglich machen würde. Auf einer Aqua-Säule erreicht man zunächst eine gute Trennung, die jedoch mit der Zeit stark nachlässt, da das Säulenmaterial durch den niedrigen pH-Wert beschädigt wird und keine scharfen Peaks mehr erzielt werden können. Als eine pH-stabile Alternative (bis zu pH 1) wurde daher eine Zorbax-Säule verwendet. Die Trennung ist ähnlich wie auf einer Aqua-Säule.

2.2.1.4 Bestimmung des Gesamtproanthocyanidingehalts mittels DMAC-Assay

Der Dimethylaminobenzaldehyd (DMAC) Assay ist eine kolorimetrische Methode zur Bestimmung des Proanthocyanidinesgesamtgehalts. Er wurde in dieser Arbeit nicht optimiert, sondern diente lediglich einem Vergleich der Beeren, da er als Standardmethode zur Bestimmung des Gesamtproanthocyanidingehalts in Cranberryprodukten vorgeschlagen wird (Prior et al., 2010).

Der Assay basiert auf der Reaktion des Aldehyden DMAC mit der Hydroxylgruppe des B-Rings von Flavan-3-olen. In Anwesenheit von einer starken Säure entsteht aus dem Aldehyd ein elektrophiles Carbokation, das mit der Hydroxylgruppe der Flavan-3-ole zu einem farbigen Carboniumion reagiert, welches bei 640 nm sein Absorptionsmaximum besitzt (Scalbert, 1992). Speziell für anthocyanhaltige Matrices wurde der DMAC-Assay als eine präzisere Alternative zum Vanillin-Assay entwickelt. Das bei 640 nm gemessene Absorptionsmaximum liegt außerhalb des Spektrums der Anthocyane und es kommt folglich nicht zu Interferenzen. Im Vergleich zum Vanillin-Assays ist die Empfindlichkeit um ein 5-faches höher (Wallace & Giusti, 2010). Die Durchführung erfolgte analog zu Prior et al. (2010).

2.3 Authentizitätsbestimmung von Cranberry, Moosbeere und Preiselbeere

2.3.1 Proanthocyanidine: Cranberry, Moosbeere und Preiselbeere

Begründet durch ihre potentiellen Effekte auf die Gesundheit, stehen die Proanthocyanidine im Fokus zahlreicher Studien (Dixon et al., 2005). Über die Proanthocyanidine der *Vaccinium*-Spezies gibt es deshalb bereits einige Informationen, wobei vor allem die A-Typ-verknüpften von Interesse sind. Die meisten Studien sind hierbei über Cranberrys verfügbar, jedoch sind die exakten chemischen Strukturen wenig bekannt.

2.3.1.1 Bedeutung der A-Typ-Procyanidine und Vergleich der *Vaccinium*-Beeren in Hinblick auf gesundheitsbezogene Eigenschaften

Die A-Typ-Procyanidine werden in *V. macrocarpon* als die wesentlichen bioaktiven Substanzen beschrieben und spielen vermutlich eine Schlüsselrolle bei der antiadhäsiven Wirkung gegen Bakterien (Foo et al., 2000a; Ou et al., 2012).

Zur Prävention von Harnwegsinfektionen mit Cranberryprodukten gibt es eine sehr große Anzahl an Studien. Unter den Suchbegriffen „Cranberry“ und „urinary tract infection“ erhält man bei Google Scholar etwa 4.800 Treffer. Die Anzahl der beweisführenden Studien ist groß und es gibt zahlreiche Hinweise für eine tatsächliche Wirkung (Wang et al., 2012).

Bislang sind bei der EFSA mehrere Anträge für Health Claims im Sinne der Verordnung (EG) Nr. 1924/ 2006 bezüglich der Cranberry und ihrer präventiven Wirkung gegen Harnwegserkrankungen gestellt worden. Bisher wurden jedoch alle beantragten Claims abgelehnt (EFSA, 2009; EFSA, 2011). Die Begründung der EFSA für die Ablehnung war, dass kein hinreichender Beweis für den Zusammenhang zwischen dem Verzehr der Cranberryprodukte und ihrer prophylaktischen Wirkung gegen HWI besteht. Die zahlreichen Humanstudien in den Anträgen wurden aufgrund der strengen Bewertungskriterien der EFSA als nicht ausreichend angesehen (da Silva, 2010). Hierbei wurde aus folgenden Gründen entschieden (EFSA, 2009):

- Sechs der Studien wurden als nicht relevant angesehen, da sie mit kranken Probanden durchgeführt wurden, sich der Claim jedoch auf gesunde Menschen bezieht.
- In einer Studie war die Dosis 6-mal so hoch als die im beantragten Claim.
- Zwei Studien wurden auf Grund eines unzureichenden Studiendesigns abgelehnt, begründet durch eine zu kurze Dauer, fehlende Randomisierung, fehlende statistische Aussagekraft und zu hohe Drop-out-Raten.
- Drei weitere Studien wurden abgelehnt, da sie mit unterschiedlichen Cranberryprodukten durchgeführt wurden, das Studiendesign als unzureichend betrachtet wurde und die Drop-out-Raten zu hoch waren.

Der Bedarf an Studien ist folglich nach wie vor gegeben. Neben Humanstudien ist auch zur Untermauerung eines Claims eine ausreichende Charakterisierung des Le-

bensmittels und Definition der physiologischen Wirkung nötig (da Silva, 2010). In den betrachteten Studien ist dies oftmals nicht der Fall. Bislang ist eine Standardisierung von Cranberryprodukten immer noch problematisch, so dass ein Vergleich von Produkten, sowie eine Empfehlung der Art der Verabreichung und Dosis der Cranberry schwierig ist (Guay, 2009).

Bislang bezieht sich die empfohlene Tagesdosis von Cranberryprodukten (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) auf einen Cranberryprocyanidinesgesamtgehalt, bei dem in humanen Interventionsstudien ein Effekt ermittelt werden konnte. Demnach zeigten in klinischen Studien 300 mL eines Cranberrynektars (27% Fruchtsaftgehalt) der 36 mg Cranberryprocyanidine enthält, eine Reduktion der bakteriellen Pyurie (Avorn et al., 1994). In der Studie von Howell et al. (2010) wurde das Eintreten eines Effektes ebenfalls in Abhängigkeit der Dosis beschrieben. Auch hier trat ein Effekt bei einer Gabe von 36 mg/ Tag ein, jedoch wurde hier Cranberrypulver verabreicht.

Anders als die EFSA erachtet die französische Behörde für Lebensmittelsicherheit (AFSSA - Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments) die Studien als ausreichend und hat einen Health Claim für Cranberryprodukte zur Prävention von HWI genehmigt. Demnach dürfen seit 2004 ausschließlich Produkte der nordamerikanischen Cranberry (*V. macrocarpon*) den Hinweis tragen, dass sie helfen, das Anhaften von *E. coli* im Harntrakt zu verhindern. Auf Grund der beiden klinischen Studien von Avorn et al. (1994) und Howell et al. (2010) wird die Dosis von 36 mg Procyanidine/ Tag durch die AFSSA als Empfehlung anerkannt.

Im Gegensatz zur Cranberry gibt es über Preiselbeeren und Moosbeeren kaum Studien. In einer klinischen Studie von Kontiokari et al. (2001) wurde die HWI-Prophylaxe der beiden Beeren untersucht. Es konnte eine positive Wirkung gezeigt werden, allerdings wurde ein Kombinationspräparat aus Moosbeere und Preiselbeere verabreicht. Die „Cochrane Collaboration“ beschreibt diese Studie als hinreichend und klinisch relevant (Jepson & Craig, 2008), jedoch stellt sie die einzige erfolgreiche klinische Studie über diese beiden Beeren dar. In einer Studie von Kylli et al. (2011) wurde die Verhinderung der Adhäsion von *E. coli* durch phenolische Extrakte aus Preiselbeeren und Moosbeeren untersucht. Es konnte bei beiden Beeren lediglich ein inhibierender Effekt auf M Hämagglutinin festgestellt werden. Hierbei handelt es sich allerdings nur um einen sehr seltenen Virulenzfaktor von *E. coli* bei HWI, so dass keine weiteren Schlussfolgerungen in Hinblick auf das Potential als Therapeutikum gemacht werden können. Ein Effekt auf p-frimbrinale *E. coli*, wie in anderen Studien über die Cranberry (Di Martino et al., 2006; Gupta et al, 2006), konnte nicht festgestellt werden. Eine Erklärung für die ausbleibende Wirkung der Moosbeere ist darin begründet, dass sie weniger A-Typ-Procyanidine als die Cranberry enthält und deshalb möglicherweise nicht in der Prävention von HWI wirksam ist. Für diese beiden *Vaccinium*-Spezies ist also noch nicht ausreichend bewiesen, dass auch sie wie die Cranberry eine präventive Wirkung gegen HWI zeigen.

Da eine Wirkung der Cranberry mit ihrem charakteristischen Polyphenolprofil zusammenhängt, ist dies ein entscheidender Aspekt im Studiendesign und Unterschiede im Profil können Einfluss auf die Effektivität von Cranberryprodukten haben. Viele Studien lassen sich nicht miteinander vergleichen, da unterschiedliche

Procyanidingehalte gegeben wurden, oder aber auch weitere wichtige Angaben zur Charakterisierung der Beeren fehlten, wie z.B. der botanische Name und Analytik der zur HWI-Prävention relevanten Cranberryinhaltsstoffe. Studien mit unterschiedlichen Beeren lassen sich ebenfalls nicht miteinander vergleichen. Die bislang gegebene Dosisempfehlung von 36 mg Cranberryprocyanidine (*V. macrocarpon*) pro Tag ist für die zahlreichen unterschiedlichen Produkte nicht unmittelbar anwendbar, da der Procyanidingehalt über einen unspezifischen Summenparameter erfasst wird. Des Weiteren werden durch Herstellungsprozesse bedingte Veränderungen im Procyanidinprofil nicht berücksichtigt. Zudem ist der Mechanismus sowie die Absorption und Bioverfügbarkeit der A-Typ-Procyanidine noch nicht geklärt (Howell, 2007) (s. Abschnitt 1.5.3.2, S. 25 ff.). Folglich könnten Unterschiede oder sogar das Fehlen von A-Typ-verknüpften Procyanidinisomeren in *V. oxycoccus* im Vergleich zu *V. macrocarpon* ein möglicher Grund für ein Ausbleiben des präventiven Effekts sein. Weiterhin gibt es auch keine eindeutigen Informationen über mögliche synergistische Effekte der Isomere, so dass auch das Procyanidinmuster als wichtig erachtet werden muss.

2.3.1.2 Proanthocyanidinprofile von Cranberry, Moosbeere und Preiselbeere

Zur Erstellung der Profile wurde in den Acetonextrakten der *Vaccinium*-Beeren nach unterschiedlichen Procyanidinen gesucht und diese anhand ihrer Fragmente zugeordnet. Hierbei wurde sich an den bereits für die Beeren in der Literatur beschriebenen Verbindungen orientiert und die drei Spezies miteinander verglichen. Alle drei *Vaccinium*-Spezies enthalten unterschiedliche A- und B-Typ-Procyanidine. Im Vergleich zu anderen Beeren sind in *Vaccinium*-Beeren besonders viele A-Typ-verknüpfte Procyanidine zu finden (Hellström et al., 2009). Bereits immer wieder in der Literatur beschrieben sind Dimere, Trimere, Tetramere sowie Pentamere und auch höhermolekulare Procyanidine mit einer oder mehr A-Typ-Verknüpfungen, die in allen drei *Vaccinium*-Spezies enthalten sind (Howell et al., 2005; Kylli et al., 2011; Tarascou et al., 2011). Es wurden Procyanidine bis Pentamere berücksichtigt, da diese durch die RP-HPLC noch gut getrennt werden können. Die chromatographische Trennung höhermolekularer Proanthocyanidine ist aufgrund von Peakverbreiterung, Coelution etc. erschwert (Krenn et al., 2007) und wird somit für eine Methode zur Bestimmung der Authentizität nicht berücksichtigt. Zur Identifizierung der unterschiedlichen Procyanidine wurde eine Scan-Methode im Messbereich von m/z 150-2000 durchgeführt und die unterschiedlichen Massenspuren überprüft und verglichen. Da kaum Standards verfügbar sind, kann eine exakte Strukturauflösung nicht gegeben werden, jedoch kann die Fragmentierung in der Ionenfalle wichtige Hinweise über die Struktur der Proanthocyanidine liefern (Friedrich et al., 2000). Tabelle 5 (S. 52) gibt einen Überblick über die in den drei *Vaccinium*-Spezies gefundenen Procyanidine (Die Massenspuren und Fragmentierung der einzelnen Isomere sind im Anhang S. 137 ff. dargestellt).

Identifizierung der Monomere

Die Procyanidine der Moosbeere und der Preiselbeere sind aus Catechin und Epicatechin aufgebaut, während Cranberryprocyanidine vorwiegend aus Epicatechin aufgebaut sind (Foo et al., 2000a; Kylli et al., 2011). Die Identifizierung der beiden Monomere in den Beeren erfolgte anhand des Vergleichs der Retentionszeiten und der Fragmentierung mit authentischen Standards (s. Anhang A.3.1, S. 137). In der vorliegenden Arbeit konnten zwar keine weiteren monomeren Flavan-3-ole identifiziert werden, jedoch wurde in allen der untersuchten Beeren in geringen Mengen ein (Epi)gallocatechindimer ($m/z = 593$) detektiert. Das bestätigt auch die Studie von Tarascou et al. (2011), wobei hier zusätzlich in der Cranberry Spuren von Epigallocatechin beschrieben sind.

Zuordnung von A-Typ-Dimeren und -Tetrameren mit einer A-Typ-Verknüpfung

A-Typ-Dimere zeigen Molekülonen $[M-H]^-$ mit $m/z = 575$. In allen Beeren wurde mittels authentischem Standard Procyanidin A2 identifiziert (s. Anhang A.3.2, S. 138). Darüberhinaus wurde ein weiterer Peak mit Ionen mit $m/z = 575$ detektiert, der das gleiche Fragmentierungsmuster im MS^2 wie A2 ($m/z = 423, 449, 539, 289, 285, 407, 453$) aufweist. Bei diesem Dimer handelt es sich vermutlich um A1, das bereits für die Preiselbeere in der Literatur beschrieben ist (Morimoto et al., 1988; Hokkanen et al., 2009). In allen drei Beeren sind beide Dimere enthalten.

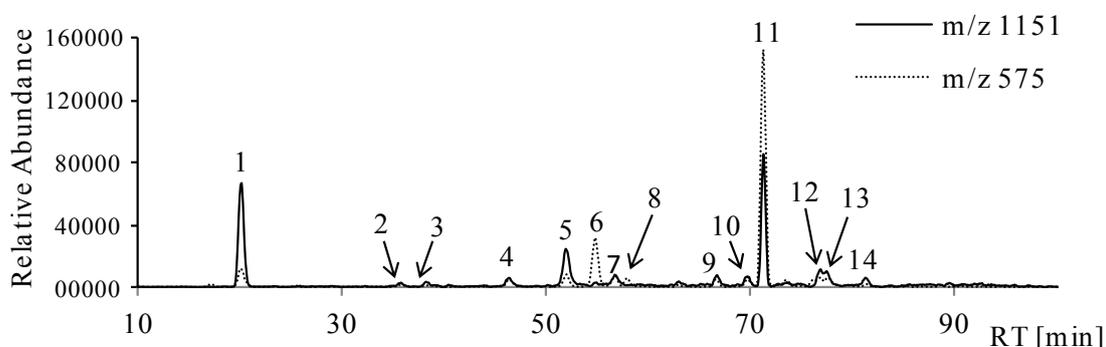


Abbildung 20: Vergleich der Massenspuren $m/z = 1151$ und $m/z = 575$ eines Cranberryextraktes

Procyanidine bilden in der ESI mit steigendem Polymerisationsgrad auch mehrfach geladene Ionen (Gu et al., 2003a). Dies wurde bereits bei Tetrameren und höheren Procyanidinen der Cranberry in Untersuchungen von Foo et al. (2000a) beschrieben. Diese Beobachtungen konnten in den hier durchgeführten Untersuchungen bestätigt werden. Tetramere mit einer A-Typ-Verknüpfung haben als einfach geladene Ionen $[M-H]^-$ ein Masse-Ladungsverhältnis von $m/z = 1151$ und als doppelt geladene Ionen $[M-2H]^{2-}$ mit $m/z = 575$. Das doppelt geladene Tetramer hat somit das gleiche Masse-Ladungsverhältnis wie ein A-Typ-Dimer. Vergleicht man die Massenspuren und die Fragmentierung der Peaks miteinander, kann zwischen diesen beiden Verbindungen unterschieden werden. In Abbildung 20 ist der Vergleich der beiden Mas-

sensspuren eines Cranberryextraktes zu sehen. Zu gleichen Retentionszeiten erscheinen hier jeweils Peaks in beiden Massenspuren.

Bei Peak 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 10, 12, 13 und 14 handelt es sich um Tetramere, die sowohl als einfach und zweifach geladene Ionen auftreten. In der Fragmentierung war dies wie folgt zu erkennen: Peaks mit Ionen $[M-2H]^{2-}$ mit $m/z = 575$ wiesen in ihrem MS-Spektrum zur gleichen Retentionszeit zusätzlich ein Ion $m/z = 1151$ auf und zeigten des Weiteren Fragmente, die für ein Dimer nicht charakteristisch sind ($m/z = 499$ und 490). Einige der Ionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 1151$ sind in das charakteristische Spektrum eines Tetramers zerfallen ($m/z = 863, 711, 999, 1025, 573, 451, 693$) (Tarascou et al., 2011). Es handelt sich folglich um keine weiteren Dimere, sondern um doppelt geladene Tetramere.

Für die beiden A-Typ-Dimere (Peak 6 und 11) zeigten das MS²- und MS³-Spektrum typische Fragmente und keine Ionen $m/z = 1151$, abgesehen von Peak 11. Hierbei handelt es sich jedoch um kein doppelt geladenes Ion, sondern ein Ionisierungsdimer $[2M-H]^-$. Im MS² Spektrum von $[2M-H]^-$ mit $m/z = 1151$ war hier nur das Ion $m/z = 575$ (Molekülion von Procyanidin A2) zu finden und keine für das Tetramer typischen Fragmente.

Ein weiteres Indiz zur Unterscheidung von doppelt oder einfach geladenen Ionen ist der Abstand zwischen den Kohlenstoffisotopen. Bei doppelt geladenen Ionen beträgt dieser etwa $m/z = 0,5$ und bei einfach geladenen Ionen $m/z = 1,0$ (Wollgast, et al., 2001; Hayasaka, et al., 2003). Betrachtet man den Abstand der Kohlenstoffisotope des Standards A2, so liegt dieser in etwa bei $m/z = 1$. Bei einem doppelt geladenen Tetramer (Peak 1) ist der Abstand kleiner $m/z = 1$ (s. Abbildung 21).

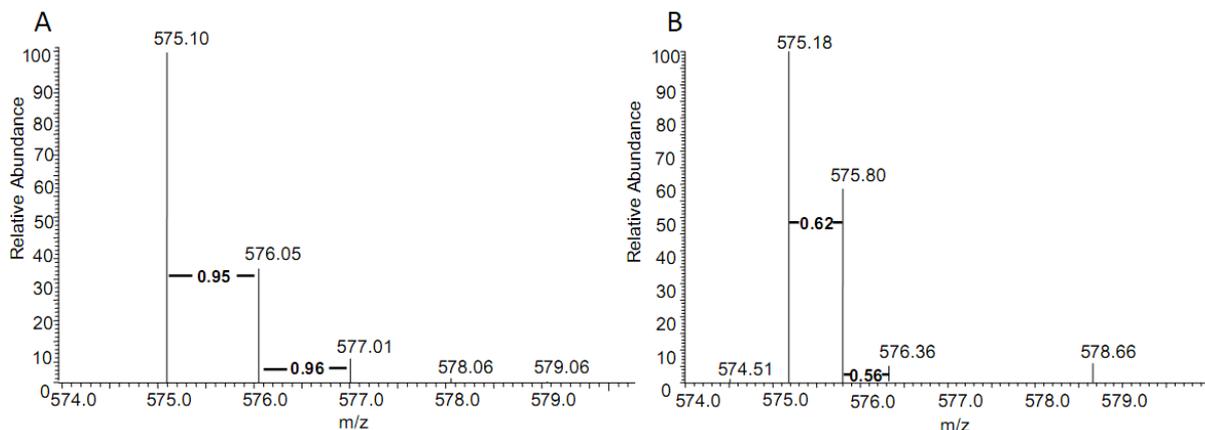


Abbildung 21: A - Abstand der Kohlenstoffisotope des einfach geladenen Ions des Dimers A2 $[M-H]^-$ bei $m/z = 575$ (Standard); B - Abstand der Kohlenstoffisotope eines doppelt geladenen Ions eines Tetramers (Cranberryextrakt Peak 1 Abbildung 20, S. 44) $[M-H]^{2-}$ mit $m/z = 575$

Anhand der Quinon-Methid-Spaltung lässt sich die A-Typ-Verknüpfung im Molekül lokalisieren (obere Einheit: Fragmente $m/z = 573$; mittlere Einheit: Fragmente $m/z = 861$, untere Einheit: Fragmente $m/z = 575$) (Gu et al., 2003a; Sarnoski et al., 2012). Eine genauere Erklärung erfolgt bei den A-Typ-verknüpften Trimeren.

Die Zuordnung der Tetramere in den anderen *Vaccinium*-Spezies erfolgte analog zur Cranberry. Insgesamt konnten in der Cranberry zehn, in der Preiselbeere (EU und CN) acht und in der Moosbeere fünf Tetramere mit einer A-Typ-Verknüpfung gefunden werden. Alle drei Spezies wiesen dabei Isomere mit allen möglichen genannten Positionen der A-Typ-Verknüpfung auf (s. Anhang A.3.6, S. 142).

In der Preiselbeere wurden bereits die beiden A-Typ-Tetramere Cinnamtannin D2 und B2 identifiziert (Morimoto et al., 1988). In einer Studie von Tarascou et al. (2011) wurden in der Cranberry acht unterschiedliche Stereoisomere der Tetramere mit einer A-Typ-Verknüpfung sowohl in der oberen, der mittleren als auch der unteren Einheit beschrieben. Informationen zur Moosbeere gibt es diesbezüglich nicht.

Zuordnung von B-Typ-Dimeren und -Tetrameren

B-Typ-Dimere zeigen Molekülonen $[M-H]^-$ mit $m/z = 577$. Alle Dimere wurden anhand ihrer charakteristischen Fragmente im MS^2 zugeordnet ($m/z = 425, 407, 451, 289, 559$). Typische Fragmente der Dimere sind hierbei die Produktionen mit $m/z = 425$ und 407. Sie resultieren aus der Retro-Diels-Alder-Spaltung $[M-H-152]^-$ und einer anschließenden Wasserabspaltung $[M-H-152-18]^-$. Diese beiden Fragmente zeigten die höchste Intensität (Friedrich et al., 2000). B1 und B2 konnten in allen Beeren anhand von authentischen Standards identifiziert, und B5 durch den Vergleich mit einem Kakaoextrakt zugeordnet werden. Die Preiselbeere (CN und EU) hat mit insgesamt sechs die meisten Dimere. In der Moosbeere wurden fünf Dimere detektiert, wohingegen die Cranberry mit vier die kleinste Anzahl aufweist (s. Anhang A.3.3, S. 139).

Morimoto et al. (1988) konnten in Cranberrys und Preiselbeeren B3 und B5 finden. Rzeppa et al. (2011) identifizierten in der Cranberry B1, B2, B3, B4, B5 und B7 anhand authentischer Standards, wobei B3 und B7 nur in geringen Mengen ($< 0,1$ mg/ 100 g FG) gefunden wurden. Moosbeeren sind in den Studien nicht berücksichtigt worden.

B-Typ-verknüpfte Tetramere zeigen Ionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 1153$. Doppelt geladene Ionen $[M-H]^{2-}$ mit $m/z = 576,5$ wurden nicht gefunden, sondern nur einfach geladene Tetramere. Die Zuordnung der Tetramere ist durch die Überlagerung der Isotopenpeaks von $[M-H]^-$ mit $m/z = 1151$ erschwert. Jedoch zeigen diese Peaks keine für das B-Typ-Tetramer charakteristischen Fragmente und konnten so unterschieden werden. In der chinesischen Preiselbeere konnten mit insgesamt acht die meisten Tetramere zugeordnet werden. Die europäische Preiselbeere zeigt vier, die Cranberry drei und die Moosbeere hat mit zwei die geringste Anzahl (s. Anhang A.3.7, S. 143).

Zuordnung der A-Typ-Trimere

A-Typ-Trimere zeigen Ionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 863$. Die beiden Tochterionen mit $m/z = 575$ oder $m/z = 573$ stammen aus der Quinon-Methid-Spaltung der Interflavanbindung, die entweder eine (Epi)cat-(Epi)cat-A-(Epi)cat- oder (Epi)cat-A-(Epi)cat-(Epi)cat-Verknüpfung ist. Es kommt folglich, je nachdem wo die A-Typ-Verknüpfung ist, zu unterschiedlichen Fragmenten (s. Abbildung 22, S. 47). Ist die obere mit der mittleren Einheit doppelt verknüpft, so resultieren daraus durch die Quinon-Methid-Spaltung zwischen der terminalen und der mittleren Einheit die Molekulationen mit $m/z = 289$ und $m/z = 573$. Ist die A-Typ-Bindung zwischen der terminalen und der mittleren Einheit, so kommt es zur Abspaltung der oberen Einheit, woraus die Fragmente $m/z = 287$ und $m/z = 575$ entstehen (Gu et al., 2003a).

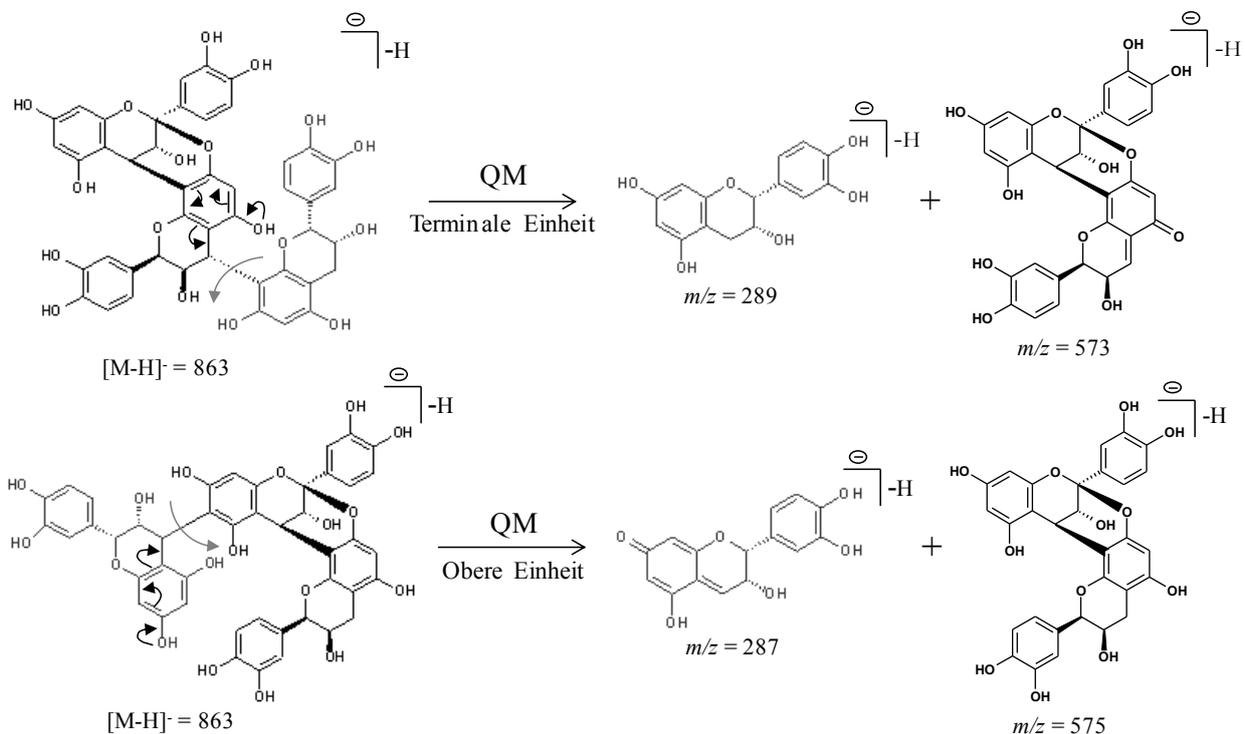


Abbildung 22: Quinon-Methid-Spaltung eines A-Typ-verknüpften Trimers mit unterschiedlicher Position der A-Typ Verknüpfung

In der Cranberry, Moosbeere und Preiselbeere wurden jeweils zwei Trimere mit einer A-Typ-Verknüpfung zwischen der oberen und der unteren Einheit gefunden (Peak 2 und 3). Zusätzlich wurden in der Cranberry fünf und in der Preiselbeere sechs mit einer A-Typ-Verknüpfung zwischen der terminalen und der mittleren Einheit zugeordnet. In der Moosbeere konnten keine weiteren Trimere detektiert werden. Der Abstand der Kohlenstoffisotope der Peaks dieser zugeordneten Trimere beträgt jeweils ca. $m/z = 1$.

Im Gegensatz zur Cranberry und Preiselbeere wurden in der Moosbeere lediglich zwei Isomere von A-Typ-Trimern gefunden. Preiselbeeren weisen die größte Anzahl an Isomeren auf. In Hinblick auf das Profil der Trimere ist die amerikanische Cranberry mit ihrer Anzahl an Isomeren, dem der Preiselbeere ähnlicher als dem der

Moosbeere. In allen untersuchten *Vaccinium*-Spezies konnten die Trimere 2 und 3 detektiert werden (s. Anhang A.3.4, S. 140).

Bei den kleineren nicht numerierten Peaks (s. Anhang A.3.4, S. 140) könnte es sich um doppelt geladene Hexamere $[M-H]^{2-}$ mit $m/z = 863$ mit zwei A-Typ-Verknüpfungen handeln, wie sie bereits von Foo et al. (2000a) in der Cranberry beschrieben wurden. Einfach geladene Hexamere $[M-H]^-$ mit $m/z = 1726$ waren nur als sehr kleine Peaks in den Spektren zu sehen und auf Grund der geringen Signalintensität zeigte keines der Ionen Fragmente.

Foo et al. (2000b) beschreiben bislang nur ein Trimer mit einer B-Typ-verknüpften unteren Einheit, so dass eine Zuordnung der Struktur zu den beiden Trimeren nicht eindeutig möglich ist. Insgesamt sind hier in der Cranberry drei Stereoisomere beschrieben, die nur aus Epicatechineinheiten aufgebaut sind. Tarascou et al. (2011) konnten fünf unterschiedliche Trimere finden, wobei in drei davon die A-Typ-Verknüpfung zwischen der oberen und unteren Einheit sitzt. In einer Studie von Morimoto et al. (1988) wurde die Struktur von vier unterschiedlichen Stereoisomeren in der Preiselbeere mittels NMR-Spektroskopie aufgeklärt. Zwei davon wurden als Cinnamtannin B1 und D1 identifiziert. Diese Trimere bestehen sowohl aus Epicatechin als auch aus Catechin.

Zuordnung der B-Typ-Trimere

B-Typ-Trimere zeigen Ionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 865$. Insgesamt konnten in den Beeren zwölf verschiedene B-Typ-Trimere anhand ihrer charakteristischen Fragmentenspektren zugeordnet werden. Die Fragmentierung ist bereits in der Literatur wie folgt beschrieben: Fragmente mit $m/z = 739$ resultieren aus der heterozyklischen Spaltung des C-Rings, Fragmente mit $m/z = 713$ aus der Retro-Diels-Alder-Spaltung des heterozyklischen Ringsystems (Abspaltung des B-Rings). Durch eine weitere Wasserabspaltung ergeben sich Ionen $m/z = 695$. Aus dem Bruch der Interflavanbindungen ergeben sich die Fragmente $m/z = 577$ und 575 sowie 289 und 287 (Hokkanen et al., 2009).

Die chinesische Preiselbeere hat mit zehn detektierten Isomeren die größte Anzahl an B-Typ-Trimeren. In der Cranberry konnten acht, in der europäischen Preiselbeere sieben und der Moosbeere sechs unterschiedliche Isomere bestimmt werden (s. Anhang A.3.5, S. 141). Durch den Vergleich mit einem Kakaoextrakt konnte das Trimer C1 zugeordnet werden. C1 ist auch von Rzeppa et al. (2011) in der Cranberry identifiziert worden. Eine exakte Strukturauflösung der anderen Trimere ist jedoch nicht möglich, da keine authentischen Standards zur Verfügung stehen.

Zuordnung doppelt geladener Pentamere mit einer A-Typ-Verknüpfung

Mit steigender Zahl des Polymerisationsgrades ist eine Zuordnung der Procyanidinisomere und die Unterscheidung von doppelt und einfach geladenen Ionen kaum noch möglich. Durch die große strukturelle Vielfalt und die kleine Massendifferenz von 2 Da zwischen A- und B-Typ-Verknüpfung kommt es zur Überlagerung der Isotopenpeaks, wodurch die Unterscheidung der Isotopenpeaks

nur noch mit einem hochauflösenden Massenspektrometer erfassbar ist (Sarnoski et al., 2012; Howell et al., 2005). Mit Hilfe der Ionenfalle findet man Hinweise auf die in der Literatur beschriebenen oligomeren Procyanidine mit unterschiedlicher Verknüpfung.

Wie bereits von Foo et al. (2000) und Tarascou et al. (2011) beschrieben, konnten in der Cranberry Pentamere sowohl mit einer als auch mit zwei A-Typ-Verknüpfungen (m/z 1439 bzw. 1437) detektiert werden. In der vorliegenden Arbeit treten im Chromatogramm Pentamere fast ausschließlich als doppelt geladene Ionen $[M-2H]^{2-}$ mit $m/z = 719$ bzw. 718 auf. Lediglich wenige, kleinere Signale der einfach geladenen ionisierten Pentamere $[M-H]^-$ mit $m/z = 1439$ oder 1437 sind zu sehen. Einige davon weisen die in der Literatur beschriebenen charakteristischen Fragmente auf (Tarascou et al., 2011):

- für $[M-H]^-$ mit $m/z = 1439$: $m/z = 1151, 1287, 1313, 861, 573, 1026$
- für $[M-H]^-$ mit $m/z = 1437$: $m/z = 1313, 1285, 1149, 863, 861, 575$

Andere Signale sind jedoch zu schwach und fragmentieren nicht. Die Fragmente der doppelt geladenen Ionen zeigen Masse-Ladungs-Verhältnisse, die der Hälfte der Tochterionen der einfach geladenen Tetramere entsprechen, also $m/z = 656$ statt $m/z = 1313$. Bei der Moosbeere ist in der Massenspur lediglich ein Ion $[M-H]^-$ mit $m/z = 719$ und $m/z = 718$ zu finden. Es handelt sich jedoch nicht um ein Pentamer, sondern um ein Ionisierungsdimer $[M-2H]^-$ eines einfach geladenen Ions $[M-H]^-$ mit $m/z = 359$, das einem Syringasäurehexosid zugeordnet werden kann (s. Abschnitt Phenolcarbonsäuren, S. 76 ff.). Es wurde folglich weder ein Pentamer mit einer noch mit zwei A-Typ-Verknüpfungen in Moosbeeren detektiert. Nur in der Cranberry konnten drei Pentamere mit zwei A-Typ-Verknüpfungen gefunden werden (s. Anhang A.3.8, S. 144-145).

Zusätzlich wurden in der Cranberry acht unterschiedliche Isomere mit einer A-Typ-Verknüpfung detektiert und in beiden Preiselbeeren (EU und CN) je vier. Tarascou et al. (2011) beschreiben in der Cranberry sechs unterschiedliche Stereoisomere mit einer und eins mit zwei A-Typ-Verknüpfungen. Sonst gibt es keine Publikationen, in der die Anzahl der unterschiedlichen Stereoisomere genannt ist.

Zuordnung von Cinchonain-Isomeren oder Flavan-3-ol-Glykosiden

Cinchonaine gehören zu den Flavonolignanen. Es sind Flavan-3-ole mit einer zusätzlichen Phenylpropanoid-Einheit. Erstmals wurde die Struktur der Cinchonain I- und II-Isomere von japanischen Wissenschaftlern spektroskopisch aufgeklärt (Abbildung 23, S. 50). Sie isolierten die Isomere aus der Rinde von *Cinchona succirubra* (Nonaka & Nishioka, 1982a; Nonaka et al., 1982b).

Die MS-Fragmentierung und die Detektion von Cinchonain-Isomeren I und II in *Vaccinium*-Spezies ist erstmals bei Hokkanen et al. (2009) beschrieben. Sie untersuchten die phenolischen Inhaltsstoffe in Blättern von *V. vitis-idaea*, *V. myrtillus* und *Vaccinium x intermedium* Ruthe L. In den Blättern der Preiselbeere wurden allerdings keine Cinchonaine gefunden. Sie wurden nur in den Blättern von *Vaccinium myrtillus* detektiert.

Cinchonain I-/ II-Isomere und Flavan-3-ol-Glykoside haben die gleiche Molekülmasse (Isobare). Über die Fragmentierung im MS²-Experiment kann man zwischen den Isobaren unterscheiden. Cinchonain I-Isomere und (Epi)catechinhexoside bilden Molekülonen [M-H]⁻ mit $m/z = 451$. In allen *Vaccinium*-Spezies konnten Ionen dieser Masse detektiert werden. Nach Vergleich mit dem bei Hokkanen et al. (2009) beschriebenen Fragmentierungsmuster ($m/z = 341, 321, 289, 231, 217, 189, 177$) konnten insgesamt fünf Cinchonain I-Isomere zugeordnet werden. Alle fünf Isomere wurden in der chinesischen Preiselbeeren detektiert. In Cranberrys konnten keine Cinchonain I-Isomere gefunden werden, aber in der Moosbeere drei. In der Literatur wurden die Cinchonaine lediglich in Blättern der *Vaccinium*-Spezies untersucht, jedoch gibt es über die Beeren dieser drei *Vaccinium*-Spezies keine Informationen. Ein Peak mit Ionen [M-H]⁻ mit $m/z = 451$ in den Massenspuren der *Vaccinium*-Spezies konnte als ein (Epi)catechinhexosid zugeordnet werden. Dieser zeigt im MS²-Spektrum lediglich eine (Epi)catechin-Einheit $m/z = 289$ als Fragment. Der Neutral Loss entspricht der Masse einer Hexose. Es handelt sich somit um kein Cinchonain, sondern vermutlich um ein (Epi)catechinhexosid (s. Abbildung 24). Die Fragmentierung stimmt mit der in der Literatur beschriebenen überein (Friedrich & Galensa, 2002).

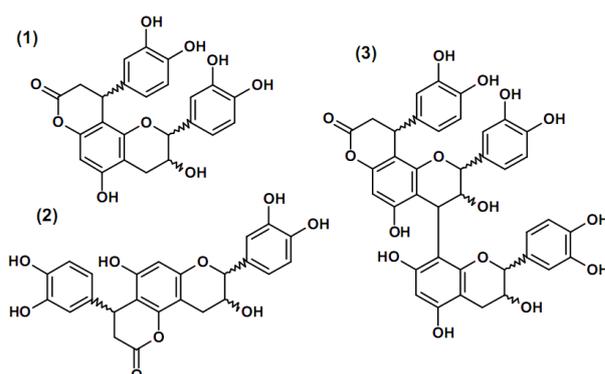


Abbildung 23: Struktur unterschiedlicher Cinchonaine: (1), (2) Cinchonain I-Isomere; (3) Cinchonain II-Isomer

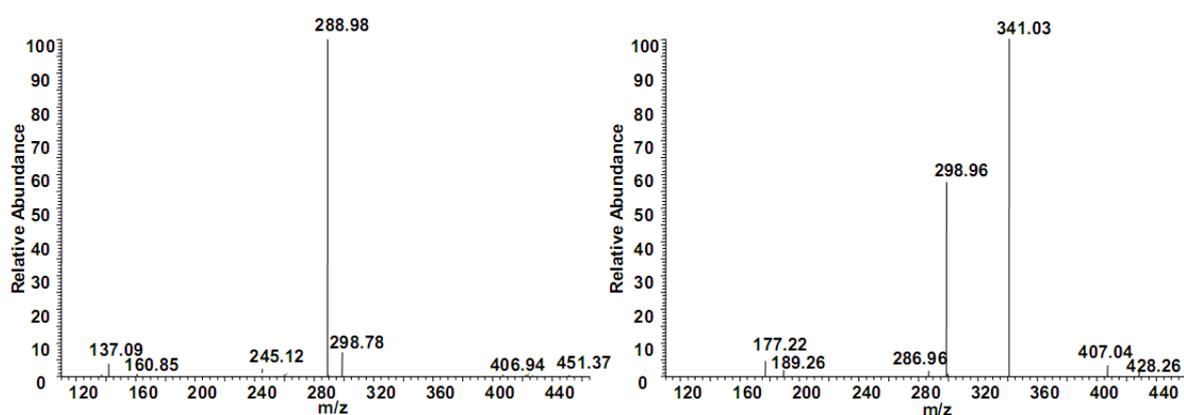


Abbildung 24: MS²-Spektrum eines Cinchonain I-Isomers (links) und eines Flavanolhexosids (rechts)

In allen drei Spezies wurde ein Flavanolglykosid gefunden (s. Anhang A.3.9, S. 146). Bislang sind in der Literatur Glykoside von Flavanolen in Cranberrys, Moosbeeren und Preiselbeeren noch nicht beschrieben worden.

Chinchonin II-Isomere und B-Typ-Dimerhexoside bilden Molekülonen [M-H]⁻ mit $m/z = 739$. Insbesondere in der Preiselbeere konnten einige Molekülonen mit einem

Masse-Ladungsverhältnis $m/z = 739$ gefunden werden. Nur in der chinesischen Preiselbeere wurden zwei Cinchonain Isomere gefunden (s. Anhang A.3.10, S. 147). Bei den anderen Peaks könnte es sich möglicherweise um Procyanidinmerglykoside handeln, jedoch ist die Fragmentierung anders als erwartet. Es kommt nicht zu einem Neutral Loss der Hexose, wie es für das Glykosid eines Monomers beschrieben ist. Es sind allerdings Fragmente zu sehen, die charakteristisch für ein Dimer sind ($m/z = 451, 289$). Eine andere Möglichkeit wäre, dass es sich um mehrfach geladene Ionen höherer Proanthocyanidine handelt. Eine genaue Zuordnung der Peaks kann nicht gegeben werden.

Fazit

Die drei untersuchten *Vaccinium*-Spezies weisen große Unterschiede in ihren Procyanidinprofilen auf (s. Tabelle 5, S. 52). Als ein Marker zur Authentizitätsbestimmung eignet sich insbesondere das Muster der A-Typ-Trimere, da hier die Unterschiede am deutlichsten sichtbar sind. Zudem gibt es über einzelne Isomere der Trimere Studien zu deren antiadhäsiver Wirkung, wohingegen die höhermolekularen Procyanidine zumeist als Fraktionen betrachtet werden (Foo et al., 2000b; Foo et al., 2000a). Daher können die Trimere als ein wichtiges und analytisch eindeutig (mit HPLC-MS) erfassbares Qualitätskriterium angesehen werden.

Anhand der Untersuchung von vier unterschiedlichen Cranberrysorten (Pilgrim, Ben Liar, Stevens und Grygleski) sowie einer Sortenmischung konnte gezeigt werden, dass das Vorkommen und das charakteristische qualitative Profil der Procyanidine unabhängig von der Sorte ist. Zudem konnte auch durch die Untersuchung der verschiedenen Herkünfte der Cranberrys (Polen, Kanada und Nordamerika) demonstriert werden, dass dies ebenfalls keinen Einfluss hat.

Bezüglich eines Jahrgangvergleichs standen zwar keine sortenreinen Cranberrys zur Verfügung, jedoch Mischungen von unterschiedlichen Erntejahren (2010, 2011, 2012). Bei allen drei Jahrgängen zeichnet sich ein gleiches Procyanidinprofil ab. Auch in den Muttersäften der Beeren konnten die Procyanidinprofile bestätigt werden, was darauf hinweist, dass die Kelterung keinen Einfluss auf das Profil hat. Die Procyanidinprofile, insbesondere der A-Typ-Trimere, können folglich als ein geeigneter Parameter zur Bestimmung der Authentizität angesehen werden.

Tabelle 5: Fragmentierungsmuster der Flavanole der drei *Vaccinium*-Spezies und Anzahl der detektierten Stereoisomere

Analyt	$\frac{[M-H]}{[M-H]^2}$	Fragmente	Anzahl der Stereoisomere			
			CB	MB	PB (EU)	PB (CN)
(Epi)catechin	289	MS ² : 245, 205, 179, 271 MS ³ [289–245]: 203, 227, 187, 161	2	2	2	2
A-Typ-Dimere	575	MS ² : 423, 449, 539, 289, 285, 407, 453 MS ³ [575–423]: 285, 313, 405, 257 MS ³ [575–449]: 286, 245, 431, 386, 405	2	2	2	2
B-Typ-Dimere	577	MS ² : 425, 407, 451, 289, 559 MS ³ [577–425]: 407, 381, 273	5	4	6	6
A-Typ-Trimere (Epi)cat–A–(Epi)cat– (Epi)cat	863	MS ² : 575, 711, 693, 559, 737, 449 MS ³ [863–575]: 449, 423, 289, 287, 407 MS ³ [863–711]: 693	4	-	5	6
A-Typ-Trimere (Epi)cat– Epi)cat–A–(Epi)cat		MS ² : 711, 451, 573, 411, 693, 531, 289 MS ³ [863–711]: 693, 559, 541, 407	2	2	2	2
B-Typ-Trimere	865	MS ² : 695, 713, 577, 575, 739, 413, 287 MS ³ [865–695]: 543, 677, 243, 405, 451, 289, 525, 586	8	6	7	10
A-Typ-Tetramere	1151/ 575	MS ² : 863, 981, 999, 1025, 575, 711, 873 MS ³ [1151–863]: 711, 575, 737, 693, 446, 531	11	5	9	7
B-Typ-Tetramere	1153	MS ² : 865, 983, 1027, 575, 1135, 1001, 739 MS ³ [1153–983]: 814, 831, 693, 965, 365, 611, 739	2	2	4	7
A-Typ-Pentamere	1437/ 718	MS ² : 861, 1285, 1025, 1267, 1446, 529 MS ³ [1437–861]: 573	3	-	-	-
A-Typ-Pentamere	1439/ 719	MS ² : 1151, 861, 1313, 1269, 739, 573, 963 MS ³ [1439–1151]: 577, 999, 861, 709, 739	8	-	4	4
(Epi)catechinhexosid	451	MS ² : 289 MS ³ [451–289]: 245, 205, 179, 161	1	1	1	1
Cinchonain I-Isomer	451	MS ² : 341, 289, 217, 189 MS ³ [451–341]: 217, 323, 297, 177	-	3	-	5
Cinchonain II-Isomer	739	MS ² : 587, 435, 449, 451, 339, 289, 569, 629, 721 MS ³ [739–587]: 435, 569, 417, 339, 459, 542	-	-	-	2

2.3.1.3 Quantifizierung der Procyanidine

Um eine Dosisempfehlung von Cranberryprodukten zu geben, ist eine entsprechend standardisierte Methode zur Bestimmung des Procyanidingehalts nötig, damit die einzelnen Produkte miteinander verglichen werden können. Die Bestimmung der Menge an Cranberrypulver oder –saft, die 36 mg Procyanidine enthält, wurde in den genannten Studien mittels DMAC-Assay durchgeführt (Howell et al., 2010).

Der DMAC-Assay wird zunehmend populärer und als eine Standardmethode diskutiert, da er eine schnelle und einfache Möglichkeit ist, bei der es keiner teuren instrumentellen Analytik, wie der HPLC-MS bedarf (Haesaerts, 2010). Prior et al. (2011) validierten eine extra für Cranberryprodukte modifizierte Version des DMAC-Assays (mit Procyanidin A2 als Standard) mit dem Ziel, eine weltweite Standardreferenzmethode zur Quantifizierung von Cranberryprocyanidinen zu haben. Er ist allerdings nur für authentische Cranberryprodukte (*V. macrocarpon*) gedacht. Bei dem so ermittelten Wert handelt es sich jedoch um einen Gesamtproanthocyaningehalt, d.h. mit dem Assay werden A- und B-Typ-Procyanidine gleichermaßen erfasst. Das Vorhandensein von A-Typ-verknüpften Procyanidinen ist folglich nicht garantiert. Demnach wird vorausgesetzt, dass hiermit ein bestimmter Anteil an antiadhäsiv wirkenden A-Typen enthalten ist, der durch diese Dosierungsangabe abgedeckt ist. Ist also ein Gehaltsunterschied bzw. unterschiedlicher Anteil an A-Typen in Moosbeere, Cranberry oder Preiselbeere feststellbar, muss die Authentizität von Cranberryprodukten gewährleistet sein. Im Zusammenhang mit dem französischen Health Claim, der sich auf die Dosis von 36 mg PACs von *Vaccinium macrocarpon* bezieht, bleibt eine Quantifizierung der A-Typ Proanthocyanidine eine wichtige Aufgabe, um einen Effekt zu gewährleisten.

Darüberhinaus wären für eine Vergleichbarkeit der Wirkung aller drei Beeren individuelle Dosierungsangaben nötig, da auf Grund der gezeigten Unterschiede der Beeren nicht pauschal mit einem unspezifischen Assay eine Aussage getroffen werden kann.

Eine Studie von Sánchez-Patán et al. (2012) zeigte anhand von 19 Cranberryprodukten, dass die Zusammensetzung phenolischer Inhaltsstoffe erhebliche Unterschiede aufweist. Lediglich vier Proben enthielten die empfohlene Dosis (36 mg) an Gesamtprocyanidinen, zeigten jedoch ein variables Procyanidinemuster. Unter Berücksichtigung der in der vorliegenden Arbeit aufgezeigten Unterschiede in den Procyanidinprofilen der Beeren ist neben der Verfälschung mit anderen Lebensmitteln, die Flavon-3-ole und/ oder B-Typ-Procyanidine enthalten, auch die Authentizität der Beeren ausschlaggebend. So könnte der variable Gehalt an A-Typ-Trimeren und Dimer A2 in den von Sánchez-Patán et al. (2012) untersuchten Produkten auch auf der Verarbeitung von unterschiedlichen Beeren beruhen. Auch wenn der Hersteller in den Produkten einen Gesamtgehalt von 36 mg Procyanidinen mittels DMAC-Assay bestimmt, bleibt der Unterschied zwischen den Spezies unberücksichtigt. Eine genaue Zusammensetzung der Produkte ist somit von Interesse und nur durch eine LC-MS-Methode erfassbar.

2.3.1.3.1 Quantifizierung von A-Typ-Dimeren und –Trimeren mittels UHPLC-MS

Die unterschiedlichen Molekülgrößen sowie die große Anzahl an Isomeren der Proanthocyanidine und der damit verbundenen verschiedenen Eigenschaften, macht eine Quantifizierung aller einzelnen Verbindungen nahezu unmöglich. Informationen über die Gehalte einzelner Isomere sind auf Grund der erschwerten Analytik bislang in der Literatur kaum vorhanden. Es gibt jedoch zahlreiche Studien, in denen der Gesamtgehalt oder auch ein Summenparameter für Dimere, Trimere, Tetramere etc. angegeben ist (Kylli et al., 2011; Hellström et al., 2009). Eine solche Quantifizierung erfolgt meist über eine Chromatographie mittels Normal-Phase, wie sie bereits erfolgreich für die Procyanidine im Kakao durchgeführt wurde (Kelm et al., 2006). Hierbei werden nicht die einzelnen Isomere getrennt, sondern die Procyanidine nach ihrem Polymerisationsgrad, so dass man einen Gesamtgehalt an Dimeren, Trimeren, Tetrameren etc. erhält. Die Anwendung unterschiedlicher Methoden und Techniken zur Extraktion und Aufreinigung der Proben macht einen Vergleich von Gehalten schwierig. Lee (2012) vergleicht in einer Studie unterschiedliche, üblicherweise angewendete Techniken zur Probenvorbereitung (keine Aufreinigung, Größenausschlusschromatographie, SPE) von Cranberryprodukten. Im Zuge dessen wurden unterschiedlich aufgearbeitete Cranberryprodukte (*V. macrocarpon*) auf ihren A2 Gehalt, Gesamtprocyanidin- und Gesamtanthocyanengehalt untersucht. Die Konzentrationen der einzelnen Proben zeigten starke Schwankungen bei allen untersuchten Inhaltsstoffen und bei einigen Produkten wurde sogar die Authentizität in Frage gestellt. Ein Vergleich von Studien mit unterschiedlicher Analytik ist somit kaum möglich. Bei einem Vergleich unterschiedlicher Produkte muss zudem die Technologie sowie die eingesetzte Rohware berücksichtigt werden, da die Gehalte sehr schwanken (Grace et al., 2012). Im Verlauf dieser Arbeit wurden die Konzentrationen der verschiedenen A-Typ-Procyanidine in den Beeren mit einer UHPLC-MS-Methode ermittelt, um so die Konzentrationsunterschiede aufzeigen zu können. Weiterhin wurden auch die Procyanidingehalte mittels DMAC-Assay erfasst und miteinander verglichen.

Tabelle 6 (S. 57) zeigt die Konzentration von A2 und den unterschiedlichen A-Typ-Trimeren der drei *Vaccinium*-Spezies. Die Peaknummern in der Tabelle beziehen sich auf Abbildung 25 (S. 55). Der A2-Gehalt in Cranberrysorten liegt zwischen 4,10-5,49 mg/ 100 g FG. Europäische und chinesische Preiselbeeren enthalten $2,11 \pm 0,27$ mg/ 100 g FG bzw. $7,98 \pm 0,72$ mg/ 100 g FG. Moosbeeren weisen mit 0,13-0,21 mg/ 100 g FG den geringsten A2-Gehalt auf.

Auch die einzelnen Gehalte der Procyanidin-Trimere der Moosbeere sind im Vergleich zu den der anderen Beeren am geringsten. In Hinblick auf den Gesamtgehalt an A-Typ-Trimeren haben Cranberrys mit 4,66-6,99 mg A2 Äq/ 100 g FG eine mindestens 15-fach höhere Konzentration als Moosbeeren mit 0,14 bzw. 0,48 mg A2 Äq/ 100 g FG. Preiselbeeren (EU, CN) weisen mit 6,04 bzw. 8,63 mg A2 Äq/ 100 g FG den höchsten Gehalt an A-Typ-Trimeren auf. Insbesondere bei der Moosbeere unterscheidet sich die Konzentration dieser A-Typ-Procyanidine von den beiden anderen Spezies.

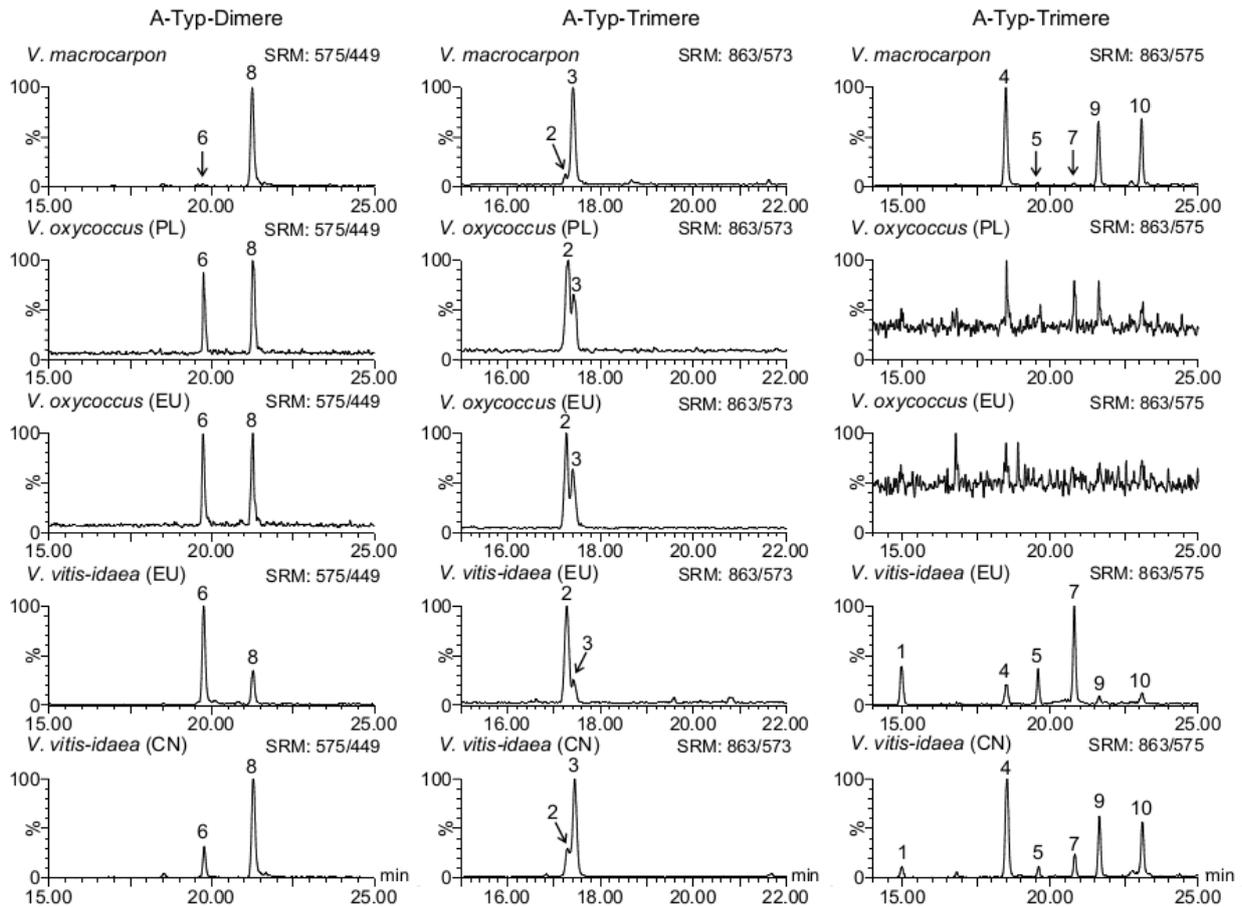


Abbildung 25: Chromatogramme der Übergänge m/z 575 \rightarrow 449, 863 \rightarrow 573 und 863 \rightarrow 575 von Acetonextrakten der drei Beeren aus verschiedenen Standorten. Die Numerierung der Peaks bezieht sich auf Tabelle 6 (S. 57)

Um die Ergebnisse zu bestätigen, wurden verschiedene Cranberrysorten analysiert. Der Gesamtgehalt der Trimere ist unterschiedlich. Die relativen Gehalte zeigen jedoch nahezu denselben prozentualen Anteil und somit ein sehr ähnliches Procyanidin A-Typ-Trimerprofil (s. Abbildung 26, S. 56). Übereinstimmende Ergebnisse erzielten Rzeppa et al. (2011) für Procyanidine in unterschiedlichen Apfelsorten.

Bislang wurde noch kein Vergleich der drei *Vaccinium*-Beeren bezüglich ihres Gehaltes an A-Typ-Trimeren und A2 veröffentlicht. In einer Studie von Grace et al. (2012) wurden Cranberryprodukte in Hinblick auf für die Gesundheit relevante Flavonoide verglichen. Unter anderem wurde der A2-Gehalt mittels LC-MS quantifiziert. Für gefriergetrocknete Beeren wurde ein A2-Gehalt von $68,1 \pm 7,7$ mg/ 100 g Trockenmasse (TM) ermittelt. Dies entspricht etwa 8,3 mg/ 100 g FG, ausgehend von einem durchschnittlichen Wassergehalt von etwa 87%.

Rzeppa et al. (2011) haben verschiedene Procyanidine in ausgewählten Früchten quantifiziert. In Cranberrys wurde die Konzentration von A2 mit $6,898 \pm 0,250$ mg/ 100 g und Cinnamtannin B1 mit $2,115 \pm 0,052$ mg/ 100 g FG gemessen. Die in dieser Arbeit bestimmte A2-Konzentration liegt mit 4,10-5,49 mg/ 100 g FG für *V. macrocarpon* im Bereich der in den beiden Studien ermittelten Gehalte. Da keine Strukturauflösung erfolgt ist und kein Procyanidin-Trimer als Standard zur Verfü-

gung stand, kann eine Zuordnung von Trimer C1 und damit ein Vergleich der Gehalte nicht durchgeführt werden.

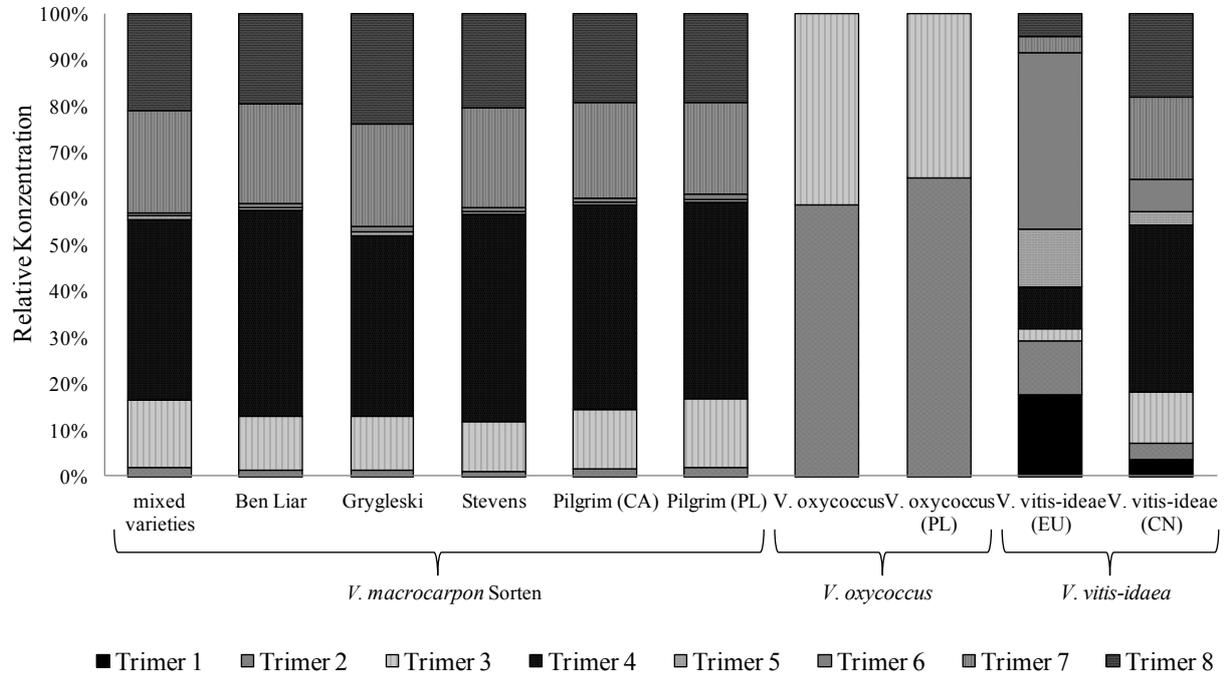


Abbildung 26: Prozentuale Anteile der verschiedenen A-Typ-Trimere in Cranberrysorten, Moosbeere und Preiselbeere

Tabelle 6: Gehalte von A2 in mg und der verschiedenen A-Typ-Trimere (m/z 863) in mg A2 Äq je 100 g frische Beeren, analysiert in den Aceton-Extrakten der *Vaccinium*-Spezies mittels UHPLC-MS im SRM-Modus

			mg (A2 Äq)/100 g Frischgewicht (FG) ^a									
Peak Nr.b	RT [min]	Analyt	<i>V. macrocarpon</i>						<i>V. oxycoccus</i>		<i>V. vitis-idaea</i>	
			Mix	Ben Liar	Grygleski	Stevens	Pilgrim (CA)	Pilgrim (PL)	EU	PL	EU	CN
6	19,81	Dimer 1	0,12 ± 0,02	0,10 ± 0,02	0,13 ± 0,02	0,13 ± 0,01	0,10 ± 0,03	0,20 ± 0,04	0,18 ± 0,02	0,09 ± 0,02	5,94 ± 0,79	1,77 ± 0,20
8	21,30	A2	4,57 ± 0,34	4,14 ± 0,37	4,66 ± 0,78	4,71 ± 0,12	4,10 ± 0,12	5,49 ± 0,61	0,21 ± 0,03	0,13 ± 0,02	2,11 ± 0,27	7,98 ± 0,72
Summe der A-Typ-Dimere (m/z 575)			4,69 ± 0,36	4,24 ± 0,39	4,79 ± 0,80	4,84 ± 0,13	4,20 ± 0,15	5,69 ± 0,65	0,39 ± 0,05	0,22 ± 0,04	8,05 ± 1,06	9,75 ± 0,92
1	14,99	Trimer 1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,55 ± 0,22	0,29 ± 0,07
2	17,31	Trimer 2	0,07 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,05 ± 0,00	0,08 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,28 ± 0,05	0,09 ± 0,01	1,03 ± 0,16	0,32 ± 0,02
3	17,45	Trimer 3	0,68 ± 0,06	0,62 ± 0,06	0,67 ± 0,08	0,68 ± 0,04	0,71 ± 0,10	1,05 ± 0,14	0,20 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,22 ± 0,03	0,98 ± 0,12
4	18,59	Trimer 4	1,82 ± 0,16	2,35 ± 0,32	3,30 ± 0,41	2,83 ± 0,30	2,49 ± 0,34	2,96 ± 0,49	n.d.	n.d.	0,82 ± 0,14	3,18 ± 0,77
5	19,60	Trimer 5	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0,01	n.d.	n.d.	1,10 ± 0,18	0,27 ± 0,05
7	20,85	Trimer 6	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,07 ± 0,02	n.d.	n.d.	3,40 ± 0,45	0,60 ± 0,11
9	21,80	Trimer 7	1,03 ± 0,08	1,14 ± 0,15	1,35 ± 0,21	1,37 ± 0,10	1,17 ± 0,18	1,40 ± 0,20	n.d.	n.d.	0,29 ± 0,04	1,59 ± 0,33
10	23,10	Trimer 8	0,98 ± 0,09	1,04 ± 0,11	1,43 ± 0,01	1,29 ± 0,09	1,09 ± 0,13	1,35 ± 0,22	n.d.	n.d.	1,60 ± 0,31	0,46 ± 0,08
Summe der A-Typ-Trimere (m/z 863)			4,66 ± 0,42	5,30 ± 0,67	6,93 ± 0,74	6,32 ± 0,55	5,62 ± 0,78	6,99 ± 1,09	0,48 ± 0,06	0,14 ± 0,02	10,01 ± 1,53	7,69 ± 1,55

^aalle Werte sind als Mittelwerte ± Standardabweichung angegeben (n = 6); die Quantifizierung erfolgte mittels A2 Kalibriergerade; n.d. nicht detektiert;

^bdie Numerierung der Peaks bezieht sich auf Abbildung 25 (S. 55)

2.3.1.3.2 Gesamtprocyanidingehalt mittels DMAC-Assay

In der nachfolgenden Tabelle werden die DMAC-Werte der drei Beeren gegenübergestellt. Es wird verglichen, inwiefern sich der Anteil an Procyanidin A2 sowie den A-Typ-Trimeren an den ermittelten Gesamtprocyanidingehalten des DMAC-Assays unterscheidet. Tabelle 7 zeigt die DMAC-Werte der Beeren, sowie die Gehalte der mittels UPLC-MS ermittelten A-Typ-Procyanidine und deren prozentualen Anteil.

Tabelle 7: DMAC-Werte der unterschiedlichen *Vaccinium*-Beeren; mittels UHPLC-MS gemessenen A-Typ-Procyanidin-Gehalte in mg (A2 Äq)/ 100 g FG und deren prozentualer Anteil

<i>Vaccinium</i> -Spezies	Gesamtproanthocyanidingehalt mg/100 g FG (DMAC)	A-Typ-Trimer mg A2 Äq/100 g FG (UHPLC-MS)	A2 mg/100g FG (UHPLCMS)	Anteil am Gesamtprocyanidingehalt (DMAC)[%]	
				A-Typ-Trimer	A2
<i>V. macrocarpon</i> (Mix)	57,6 ± 14,7	4,66 ± 0,42	4,57 ± 0,34	8,1	7,9
<i>V. macrocarpon</i> (Ben Liar)	72,2 ± 2,1	5,30 ± 0,67	4,14 ± 0,37	7,3	5,7
<i>V. macrocarpon</i> (Grygleski)	86,3 ± 10,8	6,93 ± 0,88	4,66 ± 0,78	8,0	5,4
<i>V. macrocarpon</i> (Stevens)	62,7 ± 1,4	6,32 ± 0,55	4,71 ± 0,12	10,1	7,5
<i>V. macrocarpon</i> (Pilgrim)	82,6 ± 3,1	5,62 ± 0,78	4,10 ± 0,12	6,8	5,0
<i>V. macrocarpon</i> (Pilgrim, PL)	64,5 ± 0,1	6,99 ± 1,09	5,49 ± 0,61	10,8	8,5
<i>V. oxycoccus</i> (EU)	60,8 ± 1,4	0,48 ± 0,09	0,21 ± 0,03	0,8	0,3
<i>V. oxycoccus</i> (PL)	9,1 ± 0,3	0,14 ± 0,02	0,13 ± 0,02	1,5	1,4
<i>V. vitis-idaea</i> (EU)	157,4 ± 7,9	10,01 ± 1,53	2,11 ± 0,27	6,4	1,3
<i>V. vitis-idaea</i> (CN)	122,4 ± 3,3	7,69 ± 1,55	7,98 ± 0,72	6,3	6,5

Für die Cranberry wurde ein durchschnittlicher Gesamtprocyanidingehalt von 71 mg/ 100 g FG, für die Moosbeere von 60 mg/ 100 g FG und für Preiselbeeren 140 mg/ 100 g FG ermittelt. Die Werte der Cranberry und der Moosbeere liegen in einem ähnlichen Bereich, während der von Preiselbeeren doppelt so hoch ist. In der Literatur wird der Gehalt an Procyanidinen in Preiselbeeren sogar als bis zu 4,5 fach so hoch im Vergleich zu *V. oxycoccus* beschrieben (Määttä-Riihinen et al., 2004). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen vor allem auch, dass es erhebliche Unterschiede beim prozentualen Anteil von A2 und den A-Typ-Trimeren zwischen Cranberry und Moosbeere gibt, wohingegen sich Cranberrys und Preiselbeeren nur mäßig unterscheiden. Der durchschnittlich prozentuale Anteil der A-Typ Trimer von Cranberrys liegt bei 8,5% und ist damit ca. achtmal so hoch wie der von Moosbeeren mit 1,15%. Preiselbeeren weisen mit 6,4% etwas geringere Anteile als Cranberrys auf. Abgesehen von dem niedrigeren A2-Anteil der chinesischen Preiselbeere (1,3%) im

Vergleich zur europäischen (6,5%) zeigt sich auch bei den prozentualen Anteilen von A2 der drei Spezies ein ähnliches Bild. Um die Dosierung von 36 mg Procyanidine zu erreichen, müsste man ca. 50 g Cranberrys oder 60 g Moosbeeren verzehren. Damit ist jedoch nicht die gleiche Konzentration an A-Typ-verknüpften Procyanidinen gewährleistet. Um die gleiche Menge an A-Typ-Trimeren und A2 zu sich zu nehmen, müsste man ca. zehnmals so viele Moosbeeren verzehren. Da in dieser Arbeit nur die Dimere und Trimere quantifiziert wurden, kann ein Unterschied bei anderen Procyanidinen nur vermutet werden. Die Profile deuten jedoch darauf hin, dass die Beeren dort ebenso variieren.

Obwohl in der Moosbeere die mittels UHPLC-MS quantifizierten Procyanidingehalte erheblich geringer sind, ist der Gesamtprocyanidingehalt der Moosbeere nicht viel kleiner als der der Cranberrys. Eine Erklärung für die ähnlichen Gehalte des DMAC-Assays von Moosbeere und Cranberry könnte darin bestehen, dass die Moosbeere höhere Konzentrationen an höhermolekularen Procyanidinen im Vergleich zu ihren Oligomeren hat. In Moosbeeren und Preiselbeeren wurde der Anteil an höhermolekularen Procyanidinen mit einem durchschnittlichen Polymerisationsgrad von 35 bzw. 32 auf 60% der Gesamtprocyanidine bestimmt (Kylli et al., 2011). Ein Vergleich zur Cranberry gibt es in dieser Studie jedoch nicht. In einer anderen Untersuchung wurde ein durchschnittlicher Polymerisationsgrad von Cranberryprocyanidinen von 15 bestimmt (Gu et al., 2002). Das wäre eine Erklärung dafür, dass der DMAC-Wert in der Moosbeere in etwa so hoch ist wie der in der Cranberry. D.h., die Konzentrationen an niedermolekularen Procyanidinen (bis Tetramere) sind in der Moosbeere geringer, aber nicht zwingend die höhermolekularen Fraktionen. Der Wert bei der Preiselbeere ist etwa doppelt so hoch, was ebenfalls vermuten lässt, dass der Gehalt an höhermolekularen Procyandinen erheblich zum Gesamtgehalt beiträgt. Ein Vergleich der drei Beeren bezüglich der höhermolekularen Fraktion könnte folglich zur Aufklärung beitragen.

In einer Studie von Grace et al. (2012) wurde ebenfalls der prozentuale A2-Anteil an Gesamtprocyanidingehalten (DMAC) von verschiedenen Cranberryprodukten berechnet. Hierbei sollte der Einfluss der unterschiedlichen Herstellungsverfahren geprüft werden. Der A2-Anteil der untersuchten Proben (Soßen, Saft, frische und getrocknete Beeren) lag zwischen 7,5-15%, womit auch ein Einfluss der Produktion gezeigt werden kann. Die Ergebnisse dieser Arbeit und der Studie von Grace et al. (2012) zeigen, dass der DMAC-Assay nur für eine Standardisierung genutzt werden kann, wenn sowohl die Art des Produktes berücksichtigt wird als auch zwischen den *Vaccinium*-Spezies unterschieden wird.

2.3.1.3.3 Quantifizierung der Flavan-3-ole und B-Typ-Procyanidine mittels UHPLC-MS

Neben den A-Typ-Dimeren und -Trimeren erfolgte zusätzlich die Quantifizierung der monomeren Flavan-3-ole sowie der B-Typ-Dimere und -Trimere. Alle Dimere und Trimere wurden über eine externe A2-Kalibriergerade und die Monomere entsprechend über eine (Epi)catechin-Kalibriergerade quantifiziert. In Abbildung 27 sind die Chromatogramme der im SRM-Modus gemessenen Übergänge von (Epi)catechin und der B-Typ-Procyanidine dargestellt.

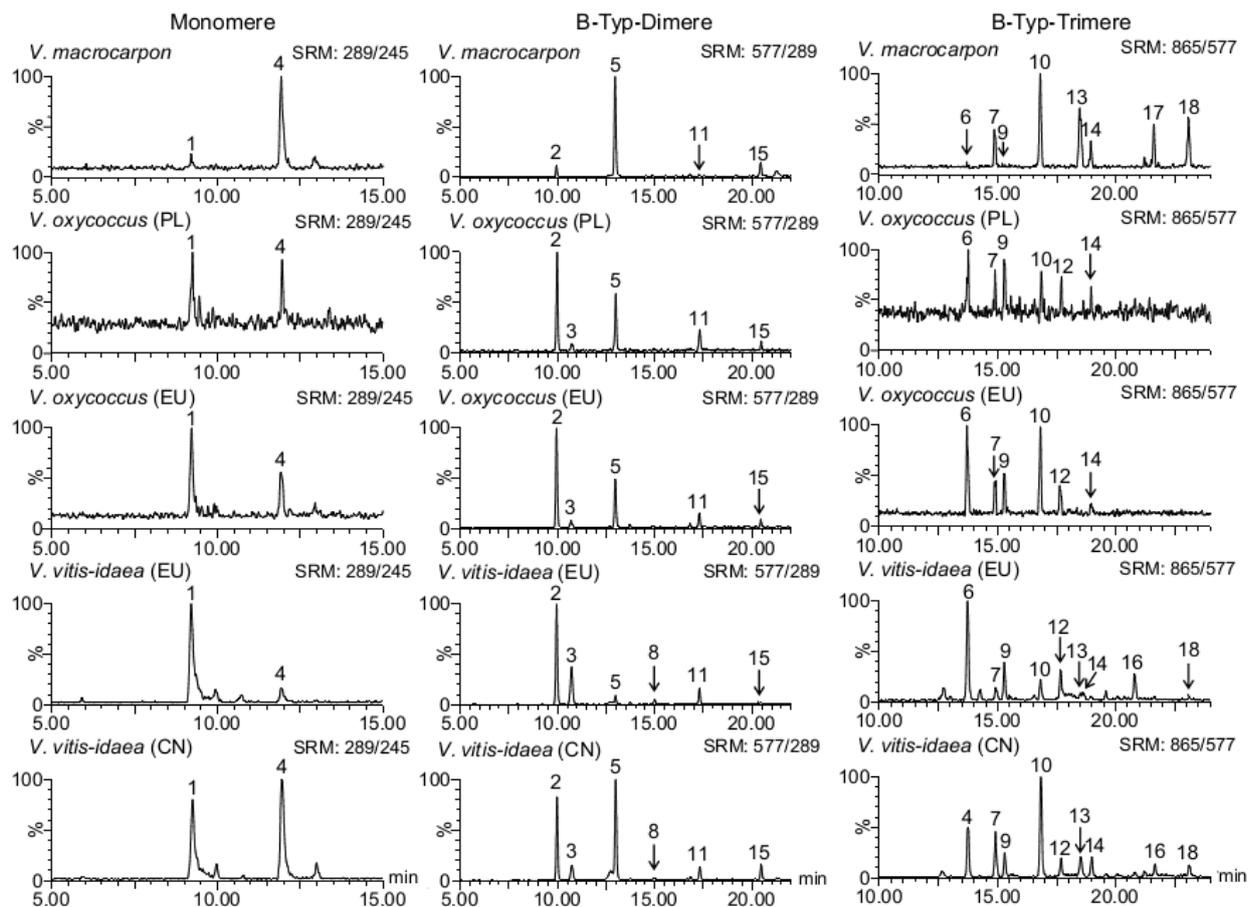


Abbildung 27: Chromatogramme der Übergänge m/z 289 \rightarrow 245, 577 \rightarrow 289 und 865 \rightarrow 577 der Acetonextrakte der drei Beeren unterschiedlicher Standorte. Die Numerierung der Peaks bezieht sich auf Tabelle 9 (S. 63)

In **Tabelle 9** (S. 63) sind die dazugehörigen Konzentrationen zu finden. Auf Grund von unterschiedlichen Umwelteinflüssen kann der Procyanidingehalt innerhalb einer Probe schwanken (Hellström et al., 2009; Määttä-Riihinen et al., 2004), dennoch konnten auch bei den B-Typ-Procyanidinen klare analytisch messbare Unterschiede zwischen den Spezies festgestellt werden.

V. vitis-idaea (EU und CN) haben mit $15,48 \pm 3,54$ bzw. $17,68 \pm 2,47$ mg/ 100 g FG die höchsten Gehalte an monomeren Flavan-3-olen, gefolgt von *V. macrocarpon* mit 2,80 – 5,05 mg/ 100 g FG und *V. oxycoccus* mit 0,55 – 1,94 mg/ 100 g FG. Das Verhältnis von Catechin zu Epicatechin in den Spezies ist unterschiedlich. *V. macrocarpon* (alle Varie-

täten) haben höhere Gehalte an Epicatechin ($2,45 \pm 0,43 - 4,46 \pm 0,59$ mg/ 100 g FG) als an Catechin ($0,33 \pm 0,05 - 0,61 \pm 0,08$ mg/ 100 g FG). Hingegen ist in der Moosbeere das Verhältnis der beiden Monomere nahezu 1:1. Die Verhältnisse in den Preiselbeeren sind nicht einheitlich. Im Vergleich mit europäischen Preiselbeeren ist das Verhältnis in der chinesischen Preiselbeere umgekehrt. Die europäische Preiselbeere weist mit $13,01 \pm 2,77$ mg/ 100 g FG mehr Catechin auf als Epicatechin mit $2,47 \pm 0,77$ mg/ 100 g FG. In einer Studie von Kylli et al. (2011) wird dies bestätigt. Kylli et al. (2011) untersuchten unterschiedliche Procyanidinfraktionen von Moosbeere und Preiselbeere sowie den prozentualen Anteil an Catechin und Epicatechin in den Procyanidinen. Demzufolge war in allen Fraktionen der Anteil an Catechin größer als der an Epicatechin. Määttä-Riihinen et al. (2004) begründen die verschiedenen Flavan-3-ol-Verhältnisse, mit dem unterschiedlichen Ursprung der Beeren. Bei einem Vergleich von Moosbeere mit Cranberry kann das bestätigt werden, jedoch zeigen gleiche Spezies aus unterschiedlichen Standorten (Cranberry aus Polen und Kanada) dieselben Verhältnisse.

Procyanidin B2 ist mit $2,12 \pm 0,10 - 4,12 \pm 0,50$ mg A2 Äq/ 100 g FG in Cranberrys das Dimer mit dem höchsten Gehalt. Dies wird in der Studie von Rzeppa et al. (2011) bestätigt, in der die Konzentration von B2 in Cranberrys mit $2,945 \pm 0,132$ mg/ 100 g FG bestimmt wurde und auch das qualitativ wichtigste Dimer darstellte.

Vergleicht man die Dimere der Spezies sind Unterschiede in den Gehalten der Isomere feststellbar. Im Gegensatz zur Cranberry ist in Moosbeere und Preiselbeere (EU) B1 das am meisten enthaltene Dimer. Der B1-Gehalt der Preiselbeere (EU) ist zehnmal und der von Moosbeeren zweimal so hoch wie der von B2. Procyanidin B5 konnte in allen Beeren gefunden werden, wenn auch in Moosbeeren und europäischen Preiselbeeren nur in Spuren. Insgesamt konnten in Preiselbeeren (EU und CN) mit $27,50 \pm 4,51$ bzw. $21,11 \pm 5,97$ mg A2 Äq/ 100 g FG die höchsten Gesamtgehalte an Dimeren detektiert werden.

In allen untersuchten Beeren konnten B-Typ-Trimere quantifiziert werden, wobei einige Isomere nur mit einem geringen Anteil zum Gesamtgehalt beitragen. Alle Spezies weisen höhere Gehalte an A-Typ- als an B-Typ-Trimeren auf, was im Einklang mit den Studien über den hohen Anteil an A-Typ-Procyanidinen steht (Hellström et al., 2009).

Es gibt zahlreiche Untersuchungen über den Proanthocyanidingehalt von unterschiedlichen Lebensmitteln (Gu et al., 2004). Hierbei konnte auch gezeigt werden, dass der Gehalt stark von Umwelteinflüssen und der untersuchten Varietät abhängt (Hellström et al., 2009). Insgesamt ist ein Vergleich mit anderen Studien jedoch erschwert, da nicht immer zwischen den Spezies *V. macrocarpon* und *V. oxycoccus* unterschieden wird. Des Weiteren gibt es wenige Studien, die die Konzentrationen der einzelnen B-Typ-Stereoisomere aufzeigen bzw. oftmals sind nur Summenparameter angegeben, so dass ein Vergleich mit der Literatur nicht gegeben werden kann. Feststellbar ist aber, dass es erhebliche Unterschiede nicht nur in den Profilen sondern auch in den Konzentrationen und Verhältnissen der Procyanidine gibt. Tabelle 8 (S. 62) gibt eine Übersicht die hier ermittelten Unterschiede. Die einzelnen Cranberryvarietäten (trotz verschiedener Herkunft PL und CA) weisen hierbei ein

konstantes Profil auf und nahezu gleiche Verhältnisse. Preiselbeeren und insbesondere Cranberrys und Moosbeeren gleichen sich jedoch nicht. Die ermittelten Parameter eignen sich folglich zur Bestimmung der Authentizität der drei Beeren.

Tabelle 8: Überblick über die Unterschiede zwischen den drei *Vaccinium*-Spezies in Bezug auf die Flavan-3-ole

Allgemeine Namen	<i>Vaccinium</i> -Spezies	Varietät	Verhältnis Epicatechin/Catechin	Anzahl an A-Typ-Trimeren	Verhältnis Dimer A2/A-Typ-Dimer1	Verhältnis Procyanidin B1/B2
American Cranberry, large Cranberry, großfrüchtige Moosbeere, Kranbeere	<i>V. macrocarpon</i>	Mixed	7,00	7	38,08	0,09
		Ben Liar	7,35	7	41,40	0,10
		Grygleski	8,61	7	35,85	0,10
		Stevens	7,28	7	36,23	0,09
		Pilgrim	8,16	7	41,00	0,07
		Pilgrim (PL)	8,26	7	27,45	0,09
European Cranberry, small Cranberry, (kleinfrüchtige) Moosbeere	<i>V. oxycoccus</i>	Wild (EU)	0,60	2	1,17	1,87
		Wild (PL)	0,67	2	1,44	2,07
Lingonberry, cowberry, mountain cranberry, mos cranberry, Moosbeere, Preiselbeere	<i>V. vitis-idaea</i>	Wild (EU)	0,19	8	0,35	9,67
		Wild (CN)	1,49	8	4,51	0,71

Tabelle 9: Gehalte von Monomeren in mg sowie der verschiedenen B-Typ Trimere (m/z 865) und Dimeren (m/z 577) in mg A2 Äq je 100 g FG, analysiert in den Aceton-Extrakten der *Vaccinium*-Spezies mittels UHPLC-MS im SRM-Modus

			mg (A2 Äq)/100 g Frischgewicht (FG) ^a									
Peak Nr.b	RT [min]	Analyt	<i>V. macrocarpon</i>						<i>V. oxycoccus</i>		<i>V. vitis-idaea</i>	
			Mix	Ben Liar	Grygleski	Stevens	Pilgrim (CA)	Pilgrim (PL)	EU	PL	EU	CN
1	9,27	Catechin	0,35 ± 0,05	0,33 ± 0,05	0,61 ± 0,08	0,37 ± 0,07	0,38 ± 0,06	0,54 ± 0,07	1,21 ± 0,33	0,33 ± 0,04	13,01 ± 2,77	7,18 ± 1,70
4	11,99	Epicatechin	2,45 ± 0,43	2,84 ± 0,66	4,44 ± 0,82	2,72 ± 0,48	3,10 ± 0,76	4,46 ± 0,59	0,73 ± 0,21	0,22 ± 0,03	2,47 ± 0,77	10,68 ± 0,77
Summe der Monomere (m/z 289)			2,80 ± 0,48	3,17 ± 0,71	5,05 ± 0,90	3,09 ± 0,55	4,48 ± 0,82	5,00 ± 0,66	1,94 ± 0,54	0,55 ± 0,07	15,48 ± 3,54	17,86 ± 2,47
2	10,04	Dimer B1	0,19 ± 0,02	0,28 ± 0,06	0,39 ± 0,06	0,27 ± 0,04	0,22 ± 0,06	0,39 ± 0,06	1,27 ± 0,22	0,29 ± 0,064	14,22 ± 2,51	6,66 ± 1,89
3	10,81	Dimer	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,13 ± 0,02	0,03 ± 0,01	8,02 ± 1,13	1,97 ± 0,53
5	13,01	Dimer B2	2,12 ± 0,10	2,12 ± 0,10	3,81 ± 0,50	3,13 ± 0,41	3,10 ± 0,65	4,12 ± 0,02	0,68 ± 0,14	0,14 ± 0,02	1,47 ± 0,23	9,40 ± 2,68
8	15,01	Dimer	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,88 ± 0,10	0,36 ± 0,10
11	17,38	Dimer	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,26 ± 0,06	0,07 ± 0,02	2,55 ± 0,48	1,22 ± 0,31
15	20,50	Dimer B5	0,36 ± 0,04	0,36 ± 0,04	0,57 ± 0,08	0,50 ± 0,06	0,47 ± 0,09	0,64 ± 0,12	0,11 ± 0,03	0,03 ± 0,01	0,36 ± 0,06	1,50 ± 0,46
Summe der B-Typ-Dimere (m/z 577)			2,67 ± 0,16	2,67 ± 0,16	4,77 ± 0,64	3,90 ± 0,51	3,71 ± 0,80	5,15 ± 0,20	2,45 ± 0,47	0,56 ± 0,12	27,50 ± 4,51	21,11 ± 5,97
6	13,75	Trimer	< 0,01	< 0,01	0,01 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,09 ± 0,03	0,01 ± 0,00	1,07 ± 0,20	0,53 ± 0,16
7	14,92	Trimer	0,09 ± 0,02	0,16 ± 0,03	0,13 ± 0,02	0,15 ± 0,02	0,15 ± 0,04	0,19 ± 0,04	0,03 ± 0,01	< 0,01	0,16 ± 0,04	0,39 ± 0,11
9	15,30	Trimer	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,04 ± 0,02	0,01 ± 0,00	0,41 ± 0,06	0,20 ± 0,07
10	16,86	Trimer C1	0,19 ± 0,04	0,31 ± 0,04	0,33 ± 0,05	0,30 ± 0,04	0,30 ± 0,08	0,40 ± 0,08	0,07 ± 0,02	0,01 ± 0,00	0,22 ± 0,04	0,95 ± 0,27
12	17,66	Trimer	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,03 ± 0,01	< 0,01	0,38 ± 0,06	0,17 ± 0,04
13	18,55	Trimer	0,13 ± 0,01	0,19 ± 0,03	0,25 ± 0,03	0,20 ± 0,03	0,18 ± 0,04	0,21 ± 0,04	n.d.	n.d.	0,20 ± 0,04	0,24 ± 0,06
14	18,99	Trimer	0,04 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,02	0,08 ± 0,01	0,01 ± 0,00	< 0,01	0,06 ± 0,01	0,17 ± 0,06
16	20,79	Trimer	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,29 ± 0,04	n.d.
17	21,65	Trimer	0,07 ± 0,01	0,09 ± 0,02	0,10 ± 0,02	0,10 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,10 ± 0,02	n.d.	n.d.	n.d.	0,15 ± 0,03
18	23,15	Trimer	0,09 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,12 ± 0,02	0,09 ± 0,01	0,10 ± 0,02	0,11 ± 0,02	n.d.	n.d.	0,03 ± 0,02	0,13 ± 0,07
Summe der B-Typ-Trimere (m/z 865)			0,61 ± 0,10	0,93 ± 0,15	1,01 ± 0,16	0,92 ± 0,13	0,88 ± 0,22	1,12 ± 0,22	0,27 ± 0,09	0,04 ± 0,00	2,28 ± 0,51	2,93 ± 0,87

^aDie Daten sind Mittelwerte der Proben ± Standardabweichung (n = 6); ^bDie Numerierung der Peaks bezieht sich auf Abbildung 27 (S. 60); n.d., nicht detektiert.

2.3.2 Anthocyane: Profile und Quantifizierung

Die Anthocyane sind für die leuchtend rote Farbe der Cranberry, Moosbeere und Preiselbeere verantwortlich. Sie tragen einen erheblichen Anteil zu den Gehalten der Flavonoiden in *Vaccinium*-Beeren bei (Zheng et al., 2003). Tabelle 10 (S. 66) zeigt die massenspektrometrischen Daten zur Identifizierung der Anthocyane. In Abbildung 28 sind die dazugehörigen HPLC-Chromatogramme der Beeren bei 520 nm dargestellt.

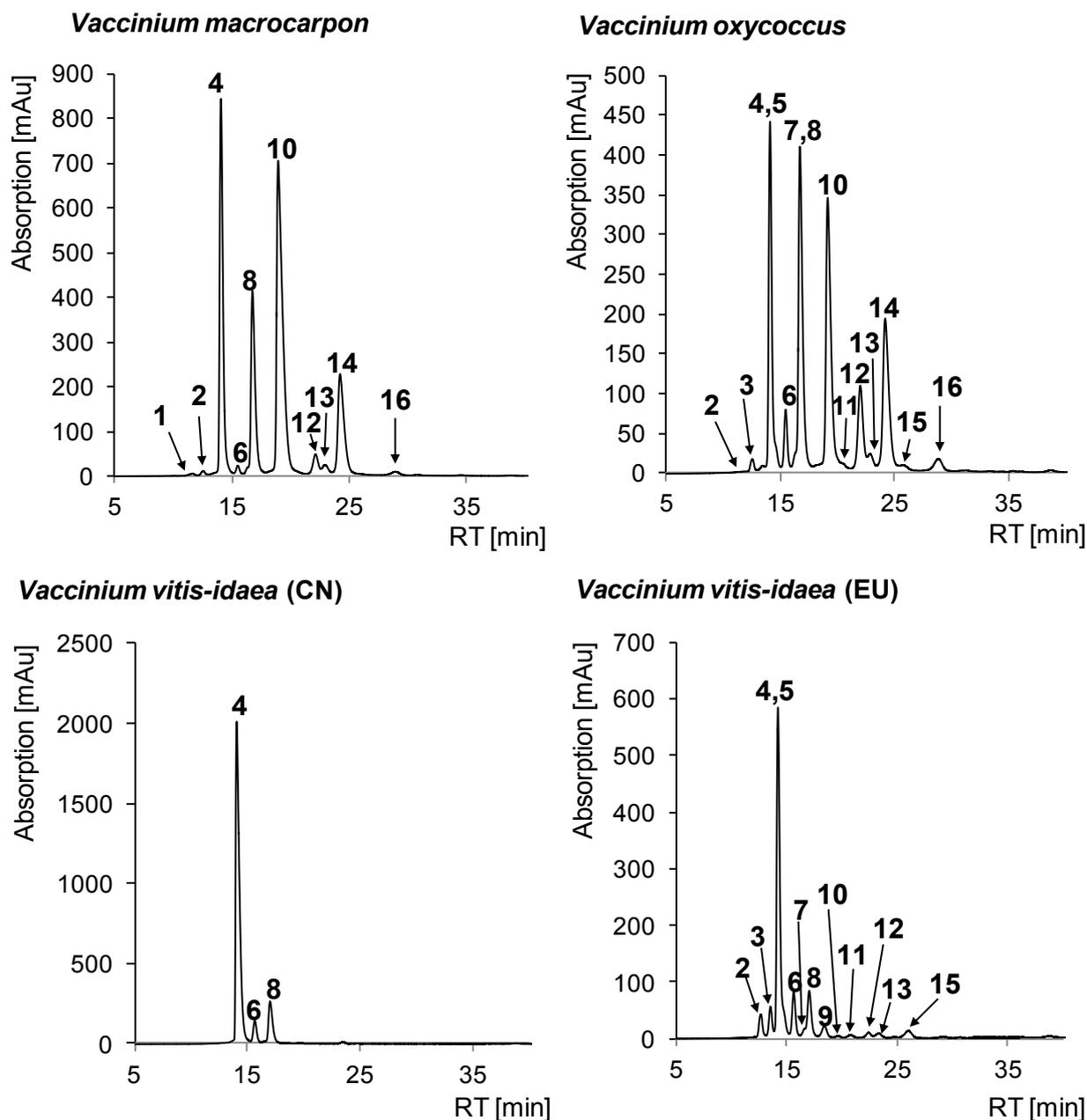


Abbildung 28: HPLC-Chromatogramme von Cranberry, Moosbeere und Preiselbeere (CN, EU) bei 520 nm. Die Numerierung der Peaks bezieht sich auf Tabelle 10 (S. 66)

Die Identifizierung der Anthocyane erfolgte durch einen Vergleich mit einem Heidelbeerextrakt (s. Abschnitt 2.4.2.1, S. 89 ff.), Daten aus der Literatur und authentischen Standards. Insgesamt weisen alle untersuchten Cranberrysorten zehn verschiedene Anthocyane auf. Die Hauptanthocyane der Cranberry sind Glykoside von Cyanidin und Peonidin (Wu & Prior., 2005). In der Literatur sind zumeist sechs Anthocyane (jeweils drei Glykoside von Cyanidin und Peonidin) beschrieben (Viskeliš et al., 2009; Zhou et al., 2004; Hong et al., 1990).

Neben den Hauptanthocyanen konnten in dieser Arbeit als Minorkomponenten außerdem Malvidin-3-O-galactosid und -arabinosid, sowie Delphinidin-3-O-galactosid und ein Peonidindiglykosid gefunden werden. Bei dem Diglykosid kann davon ausgegangen werden, dass die Zucker an zwei unterschiedlichen Positionen gebunden sind, da neben dem Aglykon das Fragment $m/z = 463$ zu finden ist und zunächst nur ein Hexosid als Neutral Loss anstatt eines Dissaccharids abgespalten wird. Es ist wahrscheinlich, dass es sich um ein Peonidin-3,5-dihexosid handelt, da diese Variante am häufigsten vorkommt (Horbowicz et al., 2008). Dies wird von Wu und Prior (2005) bestätigt, denn sie beschreiben das Peonidin-3,5-digalactosid in Cranberrys. Ebenfalls in Cranberrys wurden Malvidin-3-O-galactosid und Malvidin-3-O-arabinosid gefunden. Des Weiteren wurden in der Literatur als Minorkomponenten Pelargonidin-3-O-galactosid, Pelargonidin-3-O-arabinosid, Delphinidin-3-O-arabinosid sowie Petunidin-3-O-galactosid identifiziert (Wu & Prior, 2005; Ohnishi et al., 2006), welche in dieser Arbeit nicht gefunden wurden. Delphinidin-3-O-glucosid ist wiederum von Wu und Prior (2005) nicht detektiert worden.

Das Anthocyanprofil der Moosbeere ist im Vergleich zu dem der Cranberry etwas anders. Die Hauptanthocyane sind zwar identisch, jedoch konnten in der Moosbeere insgesamt 14 unterschiedliche Verbindungen detektiert werden. Neben den zehn Anthocyanen der Cranberry wurden als weitere Minorkomponenten Delphinidin-3-O-arabinosid und -3-O-glucosid sowie Malvidin-3-O-glucosid und Petunidin-3-O-arabinosid gefunden (s. Abbildung 51, S. 157). Andersen (1989) vergleicht in einer Untersuchung die Anthocyanprofile von Cranberrys und Moosbeeren und auch dort sind Unterschiede beschrieben. Ebenfalls neben den Hauptanthocyanen wurden Delphinidin-3-O-glucosid, Petunidin-3-O-glucosid sowie Malvidin-3-O-glucosid detektiert. Obón et al. (2011) identifizierten in *V. oxycoccus* fünf Anthocyane. Darunter befinden sich auch das Delphinidin-3-O-galactosid und -3-O-glucosid sowie die drei Cyanidinglykoside. Jedoch beschreiben sie keine Derivate von Peonidin, Malvidin und Petunidin. Da über die Moosbeere wenige Studien existieren und in diesen oftmals die botanische Bezeichnung der Spezies fehlt, können weitere Vergleiche nicht herangezogen werden.

Zwischen der chinesischen und der europäischen Preiselbeere zeigen sich große Unterschiede im Anthocyanprofil. Das Muster der chinesischen Preiselbeere setzt sich lediglich aus den drei folgenden Cyanidinglykosiden zusammen: Cyanidin-3-O-galactosid, Cyanidin-3-O-glucosid und Cyanidin-3-O-arabinosid. Ein solches Muster ist bereits für *V. vitis-idaea* in einer anderen Untersuchung beschrieben (Kähkönen et al., 2003).

Tabelle 10: Massenspektrometrische Daten zur Identifizierung der Anthocyane in Cranberry, Moosbeere und Preiselbeere. Die Peaknummern beziehen sich auf Abbildung 28 (S.64)

Peak Nr.	RT [min]	Verbindung	λ_{\max}	[M+H] ⁺	Fragmentierung
1	11,68	Peonidin-3,5-dihexosid	277, 333, 513	625	MS ² [625]: 463 MS ³ [625→463]: 301
2	12,60	Delphinidin-3-O-galactosid	278, 527	465	MS ² [465]: 303 MS ³ [465→303]: 285, 257, 229, 150, 201
3	13,53	Delphinidin-3-O-glucosid	277, 523	465	MS ² [465]: 303 MS ³ [465→303]: 285, 257, 229, 150, 201
4	14,08	Cyanidin-3-O-galactosid	281, 516	449	MS ² [449]: 287 MS ³ [449→287]: 259, 213, 203, 231, 241
5	14,70	Delphinidin-3-O-arabinosid	-	435	MS ² [435]: 303 MS ³ [435→303]: 285, 257
6	15,52	Cyanidin-3-O-glucosid	281, 516	449	MS ² [449]: 287 MS ³ [449→287]: 213, 241, 231, 185
7	16,20	Petunidin-3-O-glucosid	-	479	MS ² [479]: 317 MS ³ [479→317]: -
8	16,76	Cyanidin-3-O-arabinosid	281, 517	419	MS ² [419]: 287 MS ³ [419→287]: 213, 231, 241, 259, 269
9	18,41	Petunidin-3-O-galactosid	525	479	MS ² [479]: 317 MS ³ [479→317]: -
10	18,95	Peonidin-3-O-galactosid	280, 517	463	MS ² [463]: 301 MS ³ [463→301]: 286, 258, 230, 213, 165
11	20,77	Petunidin-3-O-arabinosid	517	479	MS ² [479]: 317 MS ³ [479→317]: -
12	21,34	Peonidin-3-O-glucosid	264, 354, 516	463	MS ² [463]: 301 MS ³ [463→301]: 286, 258, 230, 213, 151
13	22,96	Malvidin-3-O-galactosid	265, 529	493	MS ² [493]: 331 MS ³ [493→331]: 316, 299, 287, 270, 179
14	24,22	Peonidin-3-O-arabinosid	280, 517	433	MS ² [433]: 301 MS ³ [433→301]: 286, 258, 230, 189, 165
15	25,81	Malvidin-3-O-glucosid	249, 519	493	MS ² [493]: 331 MS ³ [493→331]: 316, 299, 287, 270, 179
16	28,96	Malvidin-3-O-arabinosid	256, 526	463	MS ² [463]: 331 MS ³ [463→331]: 315, 299, 287, 270, 179

In der europäischen Preiselbeere wurden in der vorliegenden Arbeit neben Cyanidinglykosiden auch weitere Anthocyane als Minorkomponenten detektiert. Insgesamt konnten dreizehn unterschiedliche Anthocyane zugeordnet werden. Es wurden zusätzlich Derivate von Delphinidin, Petunidin, Malvidin und Peonidin gefunden. In beiden Preiselbeeren ist Cyanidin-3-O-galactosid das Hauptanthocyan. Im Vergleich zu Cranberrys wurde in den europäischen Preiselbeeren auch Petunidin detektiert. Diese Ergebnisse stimmen mit anderen Studien überein, in denen insgesamt bis zu 15 unterschiedliche Anthocyane in *V. vitis-idaea* beschrieben sind (Ek et al., 2006; Mane et al., 2011).

Tabelle 11: Anthocyangehalte von verschiedenen *V. macrocarpon* Sorten unterschiedlicher Herkunft

mg/100 g FG	<i>V. macrocarpon</i>							
	Mix (Rh) ^d	Ben Liar ^d	Gry-gleski ^d	Stevens ^e	Pilgrim (CA) ^d	Pilgrim (PL) ^d	Mix (Rewe) ^e	Mix (Aldi) ^e
Peonidin-3,5-dihexosid ^b	0,64 ± 0,43	0,90 ± 0,60	0,83 ± 0,51	0,98 ± 0,49	0,79 ± 0,46	0,96 ± 0,49	0,20 ± 0,00	0,36 ± 0,01
Delphinidin-3-O-galactosid ^c	0,29 ± 0,02	0,16 ± 0,02	0,51 ± 0,01	0,33 ± 0,04	0,40 ± 0,02	0,51 ± 0,01	0,21 ± 0,00	0,33 ± 0,00
Cyanidin-3-O-galactosid ^a	11,21 ± 1,12	17,35 ± 1,37	21,23 ± 1,91	13,98 ± 1,50	19,61 ± 1,71	21,60 ± 2,58	10,26 ± 0,14	14,32 ± 0,11
Cyanidin-3-O-glucosid ^a	0,79 ± 0,18	0,86 ± 0,14	1,01 ± 0,14	0,90 ± 0,21	1,05 ± 0,21	0,86 ± 0,09	0,44 ± 0,01	0,45 ± 0,00
Cyanidin-3-O-arabinosid ^a	7,26 ± 0,76	10,64 ± 0,90	12,42 ± 1,02	9,06 ± 0,95	12,32 ± 1,22	15,75 ± 1,59	7,01 ± 0,09	9,79 ± 0,09
Peonidin-3-O-galactosid ^b	18,62 ± 0,95	34,55 ± 1,06	39,22 ± 1,69	27,21 ± 1,50	30,47 ± 1,39	36,42 ± 2,67	17,91 ± 0,34	29,72 ± 0,24
Peonidin-3-O-glucosid ^b	1,10 ± 0,34	2,03 ± 0,29	2,13 ± 0,24	1,59 ± 0,41	1,73 ± 0,35	1,42 ± 0,22	0,39 ± 0,21	0,84 ± 0,00
Malvidin-3-O-galactosid ^b	0,74 ± 0,24	2,14 ± 0,46	1,42 ± 0,25	1,05 ± 0,27	1,19 ± 0,27	1,55 ± 0,34	0,21 ± 0,03	0,81 ± 0,02
Peonidin-3-O-arabinosid ^b	6,66 ± 0,35	12,03 ± 0,98	12,50 ± 0,41	10,07 ± 0,60	10,24 ± 0,42	14,76 ± 1,04	6,80 ± 0,10	11,51 ± 0,17
Malvidin-3-O-arabinosid ^b	0,34 ± 0,22	0,88 ± 0,42	0,70 ± 0,26	0,54 ± 0,26	0,51 ± 0,23	0,80 ± 0,21	0,06 ± 0,01	0,15 ± 0,01
Summe	46,71 ± 3,14	80,70 ± 4,16	91,53 ± 4,43	64,43 ± 4,47	77,23 ± 3,95	93,37 ± 6,68	43,28 ± 0,97	68,29 ± 0,77

^aQuantifiziert als Cyanidin-3-O-glucosid; ^bquantifiziert als Peonidin-3-O-glucosid; ^cquantifiziert als Delphinidin-3-O-glucosid; ^dn = 12; ^en = 3

Tabelle 11 (S. 67) und Tabelle 12 (S. 68) zeigen die Anthocyangehalte unterschiedlicher Sorten und Herkünfte der drei untersuchten *Vaccinium*-Spezies. Der Gesamtgehalt der Anthocyane zeigt innerhalb der Cranberrysorten deutliche Unterschiede. Je nach Sorte wurde eine Konzentration von 46,71-93,37 mg/ 100 g FG gemessen. Auch in der Moosbeere sind die Anthocyangehalte mit $10,50 \pm 0,44$ und $52,79 \pm 1,10$ mg/ 100 g FG verschieden. Diese Schwankungen sind erklärbar, da die Anthocyangehalte je nach Größe der Beeren, dem Reifegrad, der Varietät und den Umweltfaktoren stark beeinflusst sind (Sapers & Hargarve, 1987). Untersuchungen von Viskelis et al. (2009) zeigen ebenfalls den Einfluss unterschiedlicher Sorten und Reifegrade auf den Anthocyangesamtgehalt von Cranberrys. Wie erwartet steigt der Anthocyangehalt mit zunehmendem Reifegrad und ist je nach Sorte unterschiedlich hoch. Es konnte auch gezeigt werden, dass die individuelle Zusammensetzung der Anthocyane in den Sorten und Reifegraden nahe zu gleich ist und auch im Verlauf der Reife konstant bleibt. In der Literatur sind Gesamtgehalte für die Cranberry zwischen 46-200 mg/ 100 g FG zu finden (Horbowicz et al., 2008; USDA, 2007). Der Anthocyangehalt der Moosbeere ist vergleichbar mit dem von Cranberrys, jedoch gibt es weitaus weniger Untersuchungen. Die gemessenen Gehalte liegen zwischen

47-78 mg/ 100 g FG und sind in Übereinstimmung mit den hier ermittelten Konzentrationen (Andersen, 1989; Koponen et al. 2007; Kähkönen et al., 2001).

Tabelle 12: Anthocyangehalt von *V. oxycoccus* und *V. vitis-idaea* unterschiedlicher Herkunft

mg/100 g FG	<i>V. oxycoccus</i>		<i>V. vitis-idaea</i>	
	EU	PL	EU	CN
Delphinidin-3-O-galactosid ^c	0,30 ± 0,02	<0,01	1,77 ± 0,18	
Delphinidin-3-O-glucosid ^c	0,13 ± 0,02	<0,01	2,27 ± 0,22	
Cyanidin-3-O-galactosid ^a	8,04 ± 0,15	2,12 ± 0,02	18,40 ± 1,63	68,75 ± 6,96
Delphinidin-3-O-arabinosid ^c	0,79 ± 0,03	0,07 ± 0,01	2,00 ± 0,15	
Cyanidin-3-O-glucosid ^a	1,74 ± 0,05	0,43 ± 0,02	3,01 ± 0,25	5,84 ± 0,84
Petunidin-3-O-galactosid ^b	0,19 ± 0,03	<0,01	0,70 ± 0,14	
Cyanidin-3-O-arabinosid ^a	9,41 ± 0,17	1,86 ± 0,03	3,41 ± 0,29	10,12 ± 1,20
Petunidin-3-O-glucosid ^b			1,41 ± 0,13	
Peonidin-3-O-galactosid ^b	15,14 ± 0,34	4,10 ± 0,10	<0,01	
Petunidin-3-O-arabinosid ^b	0,42 ± 0,05	<0,01	0,17 ± 0,03	
Peonidin-3-O-glucosid ^b	4,40 ± 0,08	0,63 ± 0,08	0,39 ± 0,06	
Malvidin-3-O-galactosid ^b	0,97 ± 0,07	0,09 ± 0,01	0,17 ± 0,03	
Peonidin-3-O-arabinosid ^b	10,00 ± 0,24	2,11 ± 0,02		
Malvidin-3-O-glucosid ^b	0,33 ± 0,02	<0,01	0,42 ± 0,05	
Malvidin-3-O-arabinosid ^b	0,92 ± 0,00	0,11 ± 0,02	0,88 ± 0,09	
Summe	52,79 ± 1,10	10,50 ± 0,44	34,73 ± 3,4	79,29 ± 6,15

^aQuantifiziert als Cyanidin-3-O-glucosid; ^bquantifiziert als Peonidin-3-O-glucosid; ^cquantifiziert als Delphinidin-3-O-glucosid; n = 12;

Der Anthocyangehalt der chinesischen Preiselbeere (79,29 ± 6,15 mg/ 100 g FG) ist mehr als doppelt so hoch im Vergleich zu dem der europäischen Preiselbeere (34,73 ± 3,40 mg/ 100 g FG), obwohl die europäische Preiselbeere ein breiteres Spektrum an individuellen Anthocyanen aufweist. In der Literatur liegen die Anthocyangehalte zwischen 34-77 mg/ 100 g FG (USDA, 2007; Koponen et al., 2007; Kähkönen et al., 2001). Insgesamt liegen die Anthocyangehalte aller drei Beeren in einem ähnlichen Bereich. Hierbei unterscheiden sich die einzelnen Spezies im Gegensatz zu den Sorten in der individuellen Zusammensetzung der Anthocyane.

Sapers und Hargrave (1987) untersuchten das Muster und die Anteile der individuellen Anthocyane in drei verschiedenen Cranberrysorten in Abhängigkeit des Reifegrades (hell-, mittel- und dunkelrot). Sie fanden weder im Profil noch in der prozentualen Verteilung einen Unterschied. Diese Gemeinsamkeiten zeigten auch die hier untersuchten Cranberrys. In Abbildung 29 ist die prozentuale Verteilung der einzelnen Anthocyane der unterschiedlichen Varietäten von *V. macrocarpon*, *V. oxycoccus* und *V. vitis-idaea* dargestellt. Obwohl der Gesamtgehalt, auch zwischen den

Sorten, stark variiert und die Gehalte einzelner Glykoside verschieden sind, ist jedoch die prozentuale Verteilung in den einzelnen Sorten der amerikanischen Cranberrys wie auch die der beiden Moosbeeren nahezu identisch. Zwischen Moosbeere und Cranberry sind nur kleine Unterschiede zu finden. In Cranberrys machen Cyanidin-3-O-glucosid und Peonidin-3-O-glucosid nur einen sehr geringen Anteil (ca. 1%) aus, wohingegen in der Moosbeere die Anteile größer sind (Cya-glu: ca. 5%; Peo-glu: ca. 10%).

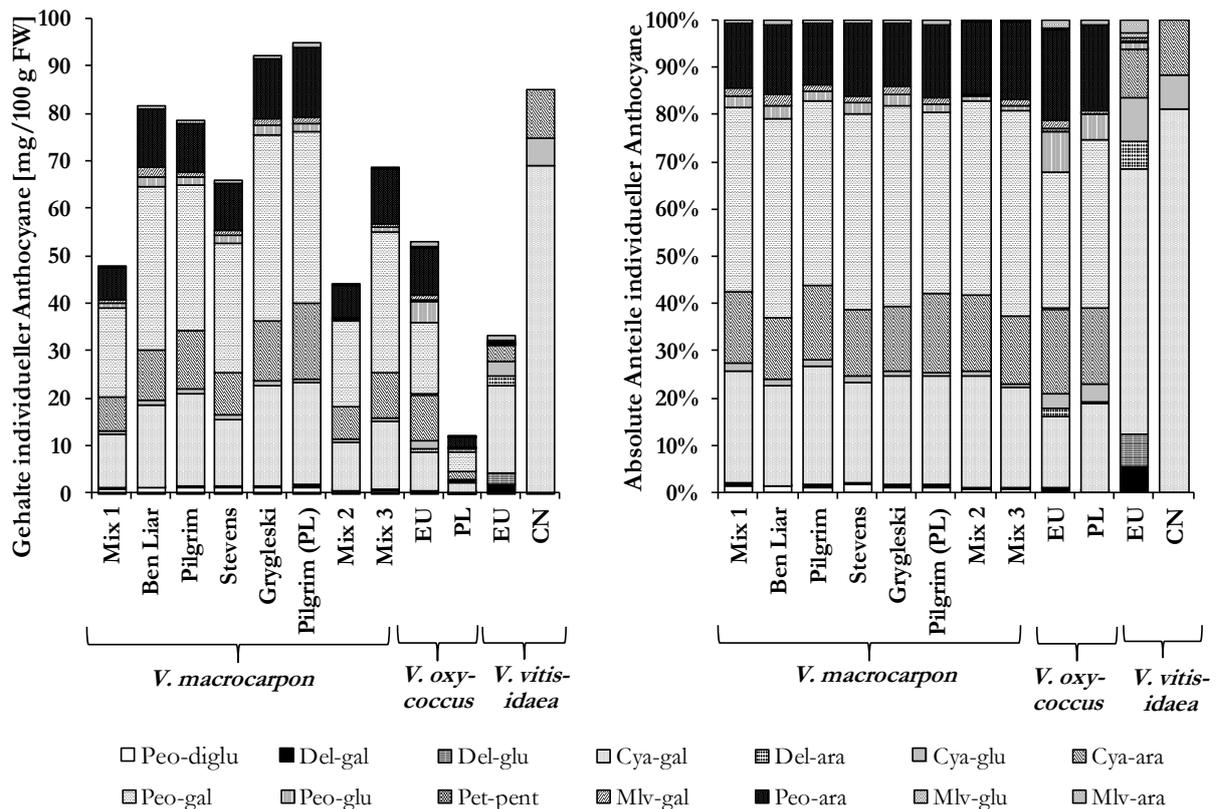


Abbildung 29: Vergleich der Gesamtgehalte und der relativen Anteile an Anthocyanen in Cranberry, Moosbeere und Preiselbeere

Im Vergleich von Cranberrys mit Moosbeeren stellte Andersen (1989) ebenfalls Unterschiede bei den prozentualen Anteilen fest. Seiner Erklärung nach geschieht dies aufgrund einer unterschiedlichen Enzymaktivität in der Pflanze, die zu Variationen in der Synthese von Peonidin- und Cyanidinglykosiden führt.

Eine Unterscheidung von Preiselbeeren zu Moosbeeren und Cranberrys über das Anthocyanmuster ist auf Grund der großen Unterschiede gut möglich. Cranberry und Moosbeere unterscheiden sich nur in Minorkomponenten und können deshalb nicht so einfach auseinander gehalten werden. Insbesondere bei Fruchtprodukten können die Minorkomponenten auf Grund der Verarbeitung abgebaut werden (Patras et al., 2010; Skrede et al., 2000; Flügel et al., 2005). Die Profile sind dann nur noch schwer differenzierbar, so dass die Anthocyanprofile von Cranberry und Moosbeere nur eingeschränkt zu deren Abgrenzung herangezogen werden können. Eine Mischung mit anderen Früchten und damit eine Abweichung des Profils kann jedoch erkannt werden (Hong & Wrolstad, 1990).

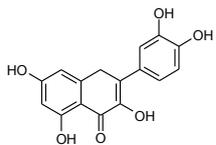
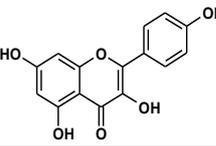
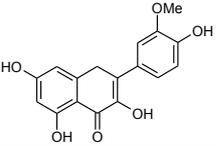
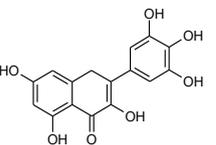
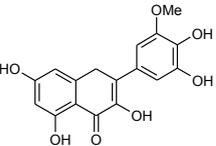
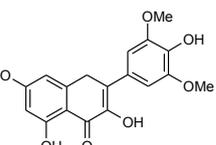
2.3.3 Flavonolprofile von Cranberry, Moosbeere und Preiselbeere

Zu den Hauptflavonolen der *Vaccinium*-Beeren zählen Verbindungen von Quercetin, Myricetin und Kämpferol. Zudem sind weitere methylierte Derivate dieser Flavonole enthalten. In der Flavonolbiosynthese entstehen sie durch die Methylierung von Myricetin und Quercetin durch O-Methyltransferasen (Kim et al., 2010). Bei den Flavonolen Laricitrin (3'-O-Methylmyricetin) und Syringetin (3',4'-O-Dimethylmyricetin) handelt es sich um Myricetinderivate. Isorhamnetin hingegen entsteht durch die Methylierung von Quercetin. Sie werden in der Pflanze als antimikrobielle Abwehrstoffe gebildet. Es konnte gezeigt werden, dass durch die Methylierung der Hydroxylgruppen die Reaktivität der Flavonole herabgesetzt wird, aber die antimikrobielle Aktivität gesteigert wird (Ibrahim et al., 1998).

Eine Zuordnung und Unterscheidung der einzelnen Flavonole wird in der Ionenfalle ermöglicht, da die Glykoside jeweils zu ihrem Aglykon fragmentieren. Anhand des Neutral Losses von 132, 162 oder 146 Da kann zugeordnet werden, ob am Aglykon eine Pentose, Hexose oder Desoxyhexose gebunden ist.

Tabelle 13 gibt einen Überblick über die unterschiedlichen Kombinationen der Zucker mit den in *Vaccinium*-Spezies vorkommenden Aglykone. Zusätzlich kann am Zucker noch eine Säure gebunden sein.

Tabelle 13: Masse-Ladungsverhältnisse der Molekulationen unterschiedlicher Flavonole und deren Glykoside

Aglykon	[M-H] ⁻		
	Pentose	Hexose	Desoxyhexose
Quercetin <i>m/z</i> 301 	433	463	447
Kämpferol <i>m/z</i> 285 	417	447	431
Isorhamnetin <i>m/z</i> 315 	447	477	461
Myricetin <i>m/z</i> 317 	449	479	463
Laricitrin <i>m/z</i> 331 	463	493	477
Syringetin <i>m/z</i> 345 	477	507	491

Moosbeere und Cranberry

nsgesamt gibt es über die Inhaltsstoffe der Moosbeere bislang noch wesentlich weniger Informationen als zur Cranberry, wobei auch aus diesen Studien oftmals nicht deutlich hervorgeht, um welche „Cranberry“ es sich handelt. Abbildung 30 zeigt einen Vergleich der HPLC-Chromatogramme von Moosbeere und Cranberry bei 360 nm. Hierbei ist deutlich erkennbar, dass die Beeren ein nahezu deckungsgleiches Flavonolmuster aufweisen. Insgesamt konnten in der Moosbeere und in der Cranberry 25 unterschiedliche Flavonole detektiert werden (s. Tabelle 14, S. 72). Tabelle 30 (im Anhang) zeigt die massenspektrometrischen Daten zu den in Tabelle 14 aufgelisteten nummerierten Peaks.

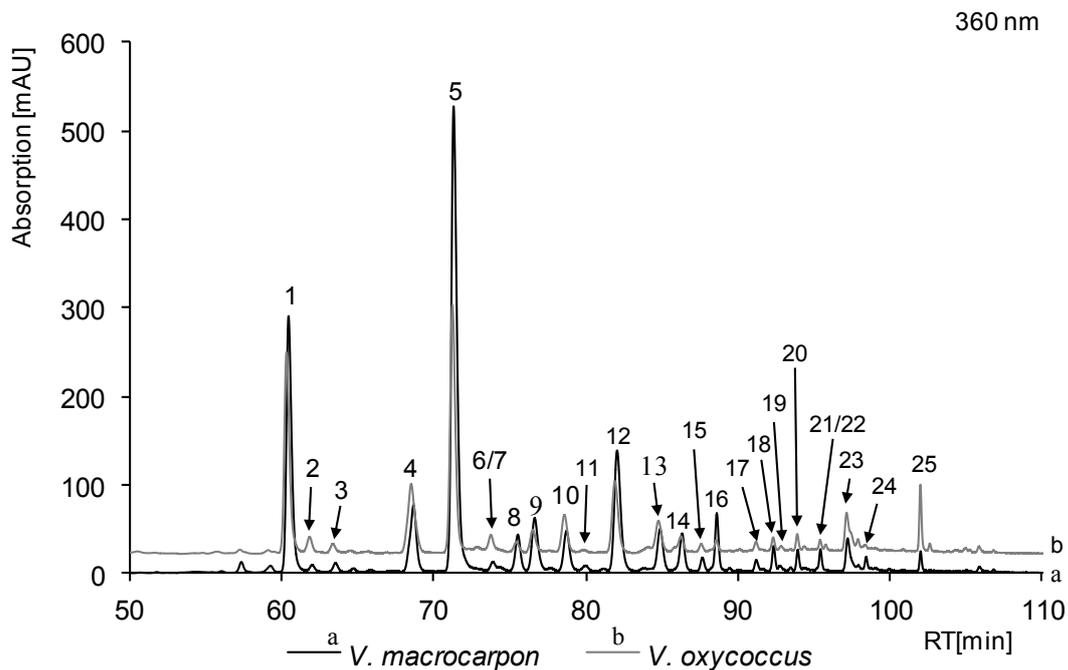


Abbildung 30: Vergleich der HPLC-UV-Chromatogramme von Cranberry (a) und Moosbeere (b) bei 360 nm. Die Numerierung der Peaks bezieht sich auf Tabelle 14 (S. 72) (und Tabelle 30 im Anhang)

Bei Peak 1, 2, 3 und 4 handelt es sich vermutlich um Myricetinglykoside. Die Mutterionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 479$ und 449 fragmentieren im MS^2 -Spektrum jeweils zum Aglykon Myricetin ($m/z = 317$). Es handelt sich um zwei Myricetinhexoside (Peak 1 und 2) und zwei Myricetinpentoside (Peak 3 und 4). In anderen Studien wurden ebenfalls Myricetinglykoside in Cranberrys identifiziert, darunter zwei Pentoside, jedoch nur ein Hexosid (Vvedenskaya et al., 2004; White et al., 2011). Auch in Moosbeeren wurde bereits Myricetin detektiert (Häkkinen et al., 1999b).

Peak 11 zeigt Mutterionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 447$ und Tochterionen $m/z = 285$. Es handelt sich wahrscheinlich um ein Kämpferolhexosid. Zheng und Wang (2003) identifizierten in Cranberrys das Kämpferolglucosid. Weitere Glykoside sind jedoch in der Literatur nicht beschrieben und konnten auch in dieser Arbeit nicht gefunden werden. In Cranberrys macht Kämpferol nur einen geringen Anteil aus und wurde in manchen Sorten gar nicht detektiert (Bilyk & Sapers, 1986). In dieser Arbeit wurde

es in allen untersuchten Varietäten gefunden. Analog zu Cranberrys wird in Moosbeeren von Kämpferol auch als Minorkomponente berichtet (Häkkinen et al., 1999b).

Tabelle 14: Flavonole in Cranberrys und Moosbeeren. Die Peaknumerierung bezieht sich auf Abbildung 30 (S. 71)

Peak	RT [min]	Verbindung	Peak	RT [min]	Verbindung
1	60,46	Myricetinhexosid	14	86,36	Isorhamnetinhexosid
2	62,01	Myricetinhexosid	15	87,70	Laricitripentosid
3	63,55	Myricetinpentosid	16	88,64	Syringetinhexosid
4	68,68	Myricetinpentosid	17	91,47	Isorhamnetinpentosid
5	71,32	Quercetingalaktosid	18	92,39	Isorhamnetinpentosid
6	73,91	Quercetinglucosid	19	92,81	Syringetinpentosid
7	73,91	Quercetinrutinosid	20	93,97	Isorhamnetinpentosid
8	75,55	Laricitrinhexosid	21	95,46	Syringetinpentosid
9	76,66	Quercetinpentosid	22	95,46	Syringetindeoxyhexosid
10	78,75	Quercetinpentosid	23	97,70	Quercetin
11	80,03	Kämpferolhexosid	24	98,57	Quercetin-(cumaroyl)-hexosid
12	82,08	Quercetinpentosid	25	102,06	Quercetin-(bezoyl)-hexosid
13	84,92	Quercetinrhamnosid			

Peak 14, 17, 18 und 20 konnten vermutlich drei Isorhamnetinpentoside und ein –hexosid (Peak 14) zugeordnet werden. Die Ergebnisse sind in Übereinstimmung mit denen in der Literatur. Isorhamnetingalaktosid wurde erstmals von Yan et al. (2002) und Isorhamnetin-3-xylopyranosid von Vvedenskaya et al. (2004) in der Cranberry identifiziert. Zusätzlich sind in der letzteren Studie auch noch zwei weitere Pentoside beschrieben.

Peak 8 und 15 können als ein Laricitrinhexosid und ein –pentosid eingeordnet werden, da ihre Mutterionen jeweils auf das Aglykon mit $m/z = 331$ fragmentieren. Peak 16, 19, 21 und 22 sind Syringetinglykoside, wobei Peak 16 als ein Hexosid, Peak 19 und 21 als Pentoside und Peak 22 als ein Desoxyhexosid eingeordnet werden können. Vvedenskaya et al. (2004) detektierten ein Methoxyquercetinpentosid und Dimethoxyquercetinhexosid in Cranberry-pulver. Syringetin- und Laricitringlykoside wurden auch bereits in anderen *Vaccinium*-Spezies, darunter Blaubeeren, identifiziert (Vrhovsek et al., 2011). Sie wurden auch in dieser Arbeit in Blaubeeren detektiert (s. Abschnitt 2.4.3, S. 96 ff.), so dass das Vorliegen dieser Verbindungen über einen Vergleich in Cranberrys und Moosbeeren bestätigt werden konnte.

Quercetin ist das am meisten vertretene Flavonol in Cranberrys und Moosbeeren (Häkkinen et al., 1999b; Bilyk & Sapers, 1986). Peak 6 und 23 wurden mit authentischen Standards als Quercetin-3-O-glucosid und Quercetin identifiziert.

Aufgrund des Fragments $m/z = 301$ im MS², werden Peak 5, 9, 10, 12 und 13 als Quercetinglykoside eingeordnet. Peak 5 ist das Hauptflavonol der Cranberry und

Moosbeere. Es konnte neben dem Glucosid ein weiteres Quercetinhexosid detektiert werden. Mehrfach in der Literatur ist Quercetin-3-O-galactosid als das Hauptflavonol der Cranberry benannt (Vvedenskaya et al., 2004; Yan et al., 2002; Neto, 2007), so dass es sich bei Peak 5 wahrscheinlich um das Quercetin-3-O-galactosid handelt.

Peak 9, 10 und 12 sind auf Grund des Neutral Loss von 132 Da als Quercetinpentoside einzuordnen. Peak 13 konnte als Quercetindesoxyhexosid beschrieben werden. Dies ist in Einklang mit der Studie von Vvedenskaya et al (2004), in der die drei Pentoside Xylopyranosid, Arabinofuranosid und -pyranosid sowie Quercetinrhamnosid identifiziert wurden.

Zudem konnten Quercetinderivate mit einer am Zucker gebundenen Phenolcarbonsäure detektiert werden. Bei Peak 24 handelt es sich vermutlich um Quercetin-(cumaroyl)-hexosid und bei Peak 25 um Quercetin-(benzoyl)-hexosid. Diese beiden Flavonole wurden von Vvedenskaya et al. (2004) erstmals in Cranberrys identifiziert, wobei es sich bei den verknüpften Zuckern um Galactose handelt.

Quercetin-(cumaroyl)-hexosid zeigt Mutterionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 609$. Nur in der Moosbeere konnte neben dem Quercetin-(cumaroyl)-hexosid ein weiterer Peak (7), der Mutterionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 609$ aufweist, detektiert werden. Er zeigte ein anderes Fragmentierungsmuster als das Quercetin-(cumaroyl)-hexosid. Anhand der Fragmente und mit Hilfe eines Standards konnte der Peak als Rutin (Quercetinrutinosid) identifiziert werden. In Übereinstimmung mit einer Studie von Vvedenskaya et al. (2004) konnte in keiner der untersuchten Sorten der amerikanischen Cranberry Rutin gefunden werden.

Abgesehen von Rutin wurden alle der zugeordneten Flavonole in beiden Beeren detektiert. Rutin ist daher die einzige Verbindung über die eine Unterscheidung bezüglich der Flavonole möglich ist. Anhand der UV-Chromatogramme ist dies jedoch nicht ersichtlich, da Rutin mit dem Quercetin-3-glucosid coeluiert und nur in geringen Mengen enthalten ist. In der Massenspur ist der Unterschied jedoch deutlich erkennbar (s. Abbildung 31, S. 74).

Rutin ist in zahlreichen Früchten enthalten (Hermann, 1976). Zur Bestimmung der Authentizität von Cranberryprodukten, die mit anderen Früchten gemischt sind, wie z.B. Fruchtsäfte oder Getränke, kann Rutin deshalb nur bedingt als ein Marker genutzt werden. Für reine Cranberryprodukte kann es jedoch als ein Unterscheidungsmerkmal herangezogen werden (Jungfer et al., 2011).

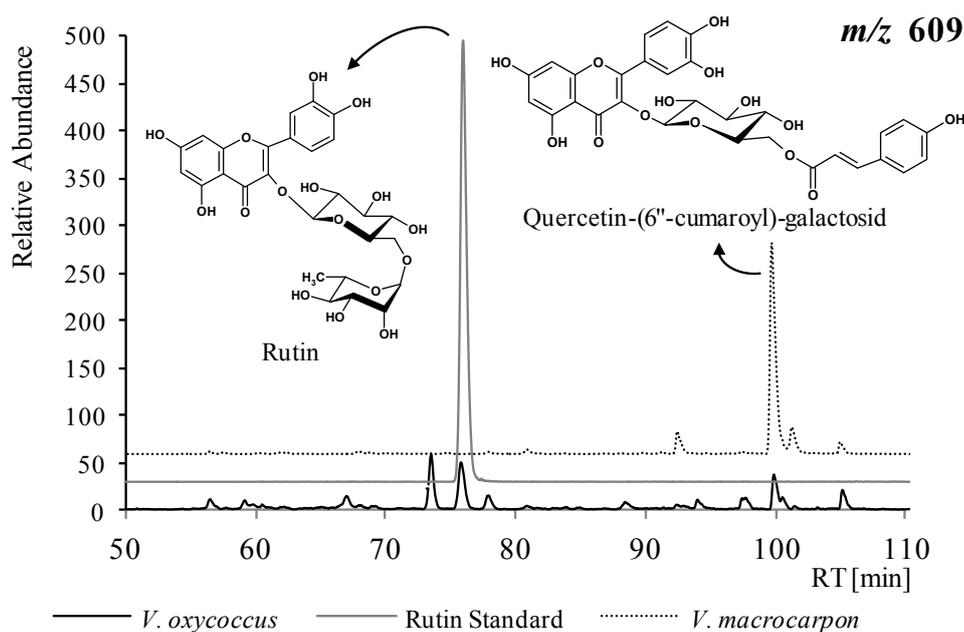


Abbildung 31: Vergleich der Massenspuren $m/z = 609$ von *V. macrocarpon* und *V. oxycoccus* mit der eines Rutinstandards

Preiselbeere

Abbildung 32 zeigt die Chromatogramme einer chinesischen und einer europäischen Preiselbeere und Tabelle 15 (S. 75) die zugeordneten Verbindungen. Die Daten der massenspektrometrischen Detektion sind im Anhang in Tabelle 31 (S. 154) dargestellt. Die Flavonole der Preiselbeere sind überwiegend Derivate von Quercetin. Neben Quercetin kommen aber auch Kämpferolderivate vor. Myricetin ist hier nicht zu finden. In Preiselbeeren wurden auch nicht, wie in Cranberrys und Moosbeeren, methylierte Derivate von Quercetin oder Myricetin detektiert. Damit ist bereits eine Unterscheidungsmöglichkeit zur Cranberry und Moosbeere geboten. Während in der Cranberry 24 Flavonole zugeordnet werden konnten, sind in der Preiselbeere 17 zu finden. Darunter konnten zwölf Quercetinverbindungen sowie das Aglykon Quercetin und vier Kämpferolverbindungen detektiert werden. Neben den Quercetinglykosiden konnte in Preiselbeeren anhand des Neutral Losses von 176 Da auch ein Quercetinglucuronid detektiert werden.

Zwischen den beiden Preiselbeeren sind jedoch Unterschiede feststellbar. Einige Flavonole (Peak 10, 13, 14, 16, 17) sind in chinesischen Preiselbeeren lediglich in Spuren detektierbar, darunter sind auch die beiden Hauptverbindungen der europäischen Preiselbeere Quercetin-desoxyhexosid (Peak 10) und Quercetin-(HMG)-desoxyhexosid (Peak 14). Abgesehen von Quercetinglucuronid, dem Quercetin- und Quercetinhexosid-Derivat, Quercetin-(benzoyl)-hexosid und Kämpferolhexosid sind alle Verbindungen auch bei (Ek et al., 2006) beschrieben. Durch einen Vergleich mit einem Chromatogramm der Cranberry konnten Quercetin-(benzoyl)-hexosid und das Kämpferolhexosid zugeordnet werden. Beide Preiselbeeren sind deutlich von der Cranberry und der Moosbeere unterscheidbar.

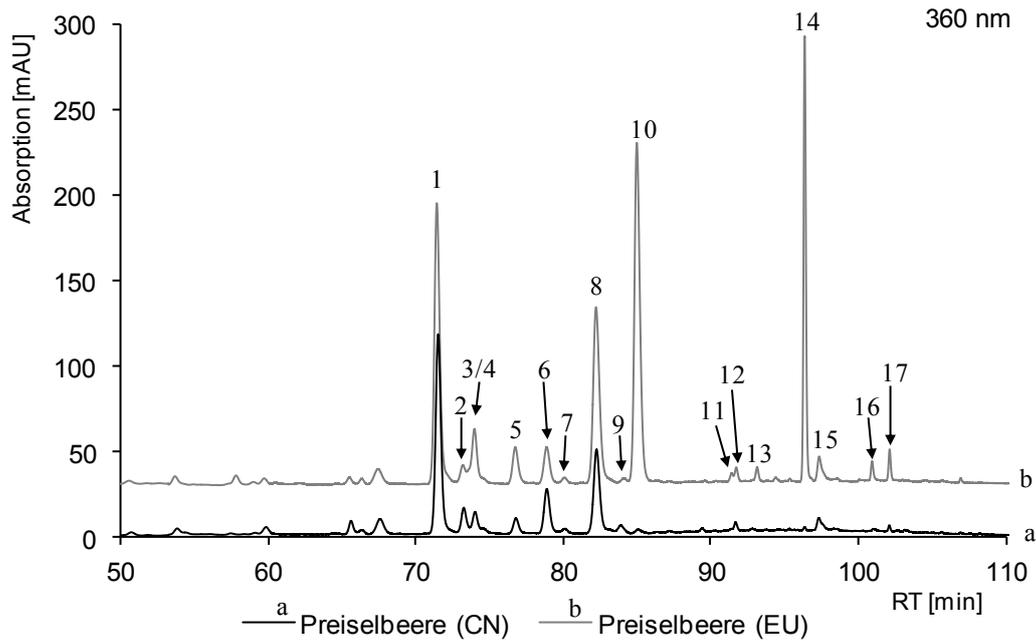


Abbildung 32: Vergleich eines Chromatogramms von chinesischen (a) und europäischen Preiselbeeren (b). Die Numerierung der Peaks bezieht sich auf Tabelle 15 (S. 75) (und Tabelle 31, S. 154 im Anhang)

Tabelle 15: Zugeordnete Flavonole der Preiselbeeren. Die Peaknumerierung bezieht sich auf Abbildung 32 (S. 75)

Peak	RT	Verbindung	Peak	RT	Verbindung
1	71,40	Quercetingalactosid	10	84,97	Quercetindesoxyhexosid
2	73,17	Quercetinglucuronid	11	91,41	Kämpferolpentosid
3	73,95	Quercetinglucosid	12	91,72	Quercetinhexosid-Derivat
4	73,95	Quercetinrutinosid	13	93,13	Kämpferoldesoxyhexosid
5	76,72	Quercetinpentosid	14	96,36	Quercetin-(HMG)-desoxyhexosid
6	78,85	Quercetinpentosid	15	97,35	Quercetin
7	80,06	Kämpferolhexosid	16	100,93	Kämpferol-(HMG)-desoxyhexosid
8	82,20	Quercetinpentosid	17	102,12	Quercetin-(benzoyl)-hexosid
9	84,10	Quercetinderivat			

HMG = Hydroxymethylglutaryl

2.3.4 Profile der Phenolcarbonsäuren und der Cumaroyliridoidglykoside

Phenolcarbonsäuren

Vaccinium-Beeren sind eine gute Quelle für Phenolcarbonsäuren (Häkkinen et al., 1999a). Nach Mattila et al. (2006) liegt der Gesamtgehalt an phenolischen Säuren in der Moosbeere bei 12 mg/ 100 g (FG) und ist geringer als der von Preiselbeeren mit 24 mg/ 100 g (FG). Cranberrys wurden in dieser Studie nicht berücksichtigt. Zuo et al. (2002) geben für die Cranberry einen Gesamtgehalt an phenolischen Säuren von 570 mg/ 100 g (FG) an. Die Beeren beinhalten zahlreiche unterschiedliche Hydroxyzimtsäurederivate in Form von Estern und Glykosiden.

Die Identifizierung von Phenolcarbonsäuren gestaltet sich schwierig, da es bei ihren Absorptionsmaxima (200-350 nm) zu zahlreichen Interferenzen kommt. Zusätzlich coeluiieren viele phenolischen Säuren aufgrund ihrer strukturellen Ähnlichkeiten. Hydroxybenzoesäuren und Hydroxyzimtsäuren können anhand ihres charakteristischen Spektrums (s. Abbildung 33) zwar unterschieden werden, ihre jeweiligen Derivate lassen sich über die UV-Detektion aber nur schwer unterscheiden. Zusätzliche Informationen durch die MS-Detektion sind zur Zuordnung unabdingbar (Schütz et al., 2005).

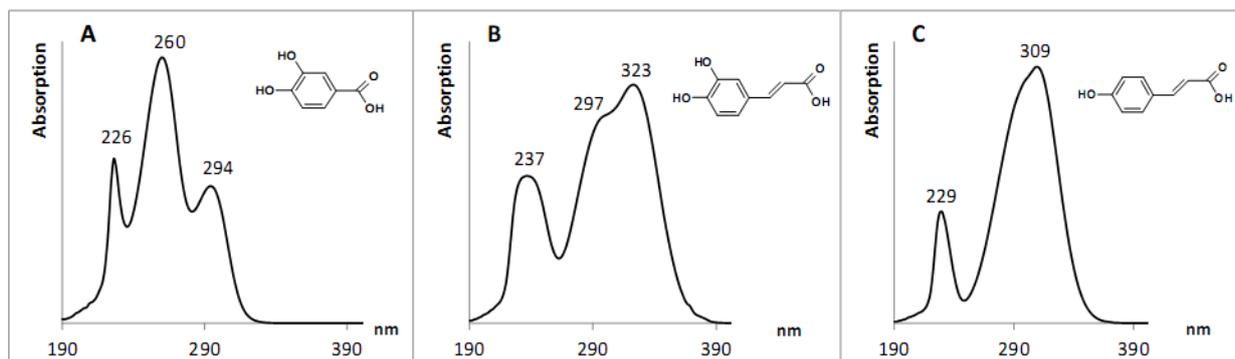


Abbildung 33: UV Spektrum einer Hydroxybenzoesäure (A = Protocatechusäure) und zwei verschiedener Hydroxyzimtsäuren (B = Kaffeesäure, C = p-Cumarsäure)

Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit der Säuren und der Stabilität der aromatischen Struktur kommt es allerdings zu keiner besonders spezifischen Fragmentierung (Robbins, 2003). Im Allgemeinen zeigen die phenolischen Säuren als eine typische Fragmentierung eine Decarboxylierung, wobei ein Tochterion entsteht, das um 44 Da ($-\text{CO}_2$) kleiner ist (Gruz et al., 2008). Über den Neutral Loss können die Glykoside (162 Da für ein Hexosid) der Säuren zugeordnet werden. Oftmals zeigen die phenolischen Säuren im MS jedoch nur eine schwache Intensität und werden von den in den *Vaccinium*-Spezies zahlreich enthaltenen Verbindungen überlagert. So lassen sich sowohl die Flavonole als auch die Proanthocyanidine, trotz Tunings mit einer Phenolcarbonsäure, besser ionisieren und verschlechtern die Signalintensität der Säuren.

Abbildung 34 (S. 79) zeigt die HPLC-Chromatogramme der Beeren-Extrakte bei 310 nm und in Tabelle 16 (S. 80) sind die dazugehörigen massenspektrometrischen Daten

aufgelistet. Insgesamt wurden 28 unterschiedliche Peaks Verbindungen zugeordnet. Bei dieser Wellenlänge lassen sich vor allem die Hydroxyzimtäurederivate detektieren. Das Absorptionsmaximum der Hydroxybenzoesäurederivate liegt im Bereich von 200-290 nm (Robbins, 2003). Für ihre Zuordnung müsste folglich ein Chromatogramm bei einer kleineren Wellenlänge betrachtet werden, worauf auf Grund der Vielzahl der Inhaltsstoffe und der daraus resultierenden Unübersichtlichkeit im Chromatogramm verzichtet wird.

Hydroxybenzoesäuren

Mit einem authentischen Standard konnte Peak 1 als Protocatechusäure identifiziert werden. Peak 3 und 4 sind jeweils Protocatechusäurehexoside. Ihr Neutral Loss ist 162 Da und im MS² ist das Protocatechusäureanion ($m/z = 153$) als Fragment zu finden. Zudem weisen die Peaks ein charakteristisches UV-Spektrum einer Hydroxybenzoesäure auf, wie Abbildung 33 (S. 76) zeigt. In allen Beeren konnten die freie Säure und die Glykoside detektiert werden.

Zusätzlich konnte ein Benzoesäureglykosid in allen Beeren detektiert werden. Es ist im Chromatogramm bei 310 nm kaum sichtbar, da das Absorptionsmaximum bei 277 nm liegt. In der MS-Detektion bilden die Mutterionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 299$ das Benzoesäureanion $m/z = 137$ als Fragment, woraus nach Decarboxylierung Ionen mit $m/z = 93$ entstehen. Benzoesäure wird in Cranberrys als die am häufigsten vorkommende Säure beschrieben (Chen et al., 2001).

Weiterhin konnte nur in Moosbeeren ein Syringasäurehexosid mit Ionen $m/z = 359$ detektiert werden. Allerdings erscheint dieses vor allem als Ionisierungsdimer $[2M-H]^-$ mit $m/z = 719$. Im MS² fragmentiert es zum Pseudomolekülion des Syringasäurehexosids ($m/z = 359$) und im MS³ kommt es zu einem Neutral Loss des Zuckers, sowie zur Decarboxylierung des Syringasäureanions (Fragmente mit $m/z = 197$ und 153). Auch das Syringasäurehexosid ist analog zur Benzoesäure aufgrund seines Absorptionsmaximums bei 274 nm im Chromatogramm bei 310 nm nicht sichtbar. Beide Peaks erhalten daher keine Peaknumerierung. Da das Syringasäurehexosid nur in der Moosbeere gefunden wurde, könnte es eine Unterscheidungsmöglichkeit zu den anderen Spezies darstellen.

In allen Beeren wurde Peak 24 als ein Zimtsäurehexosid zugeordnet. Durch die Essigsäure im Fließmittel kann es zur Bildung von Addukten kommen, was die Mutterionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 369$ erklärt. Im MS² entstehen daraus Fragmente mit $m/z = 309$, 147 und 103 . Diese entsprechen dem Masse-Ladungsverhältnis eines Zimtsäurehexosids, dem dazugehörigen Zimtsäureanion sowie dem Zimtsäureanion nach Decarboxylierung. Das UV-Maximum des Peaks liegt bei 284 nm und ist charakteristisch für die Zimtsäure. Die Fragmentierung ist in Übereinstimmung mit den Daten aus der Literatur (Aaby et al., 2012).

Hydroxyzimtsäuren

Mit authentischen Standards konnten in den untersuchten Beeren p-Cumarsäure (Peak 21), Ferulasäure (Peak 23) und Sinapinsäure (Peak 25) identifiziert werden.

Freie Ferulasäure wurde nur in Preiselbeeren gefunden. Kaffeesäure konnte nicht detektiert werden.

In Cranberrys wurden p-Cumarsäure und Sinapinsäure als die Säuren mit der höchsten Konzentration beschrieben (Zuo et al., 2002). Es konnte auch freie Ferulasäure und Kaffeesäure detektiert werden, was in den hier durchgeführten Untersuchungen jedoch nicht bestätigt werden konnte. In Moosbeeren werden freie p-Cumarsäure und in Preiselbeeren zusätzlich die Kaffeesäure als die am höchsten konzentrierte vorkommende Säure genannt (Mane et al., 2011; Zheng & Wang, 2003). In der Studie von Mane et al. (2011) sind neben den freien Säuren auch Glykoside detektiert worden. Zengh und Wang (2003) untersuchten nur die freien Säuren, so dass hier nicht das vollständige Profil wiedergegeben wurde. Abgesehen von der Ferulasäure in europäischen Preiselbeeren zeigt sich in keinem der Profile der hier untersuchten Beeren eine freie Säure als dominanter Peak, sondern sie kommen überwiegend glykosidisch gebunden vor. Das wird in einer Untersuchung an Cranberrysaft von Chen et al. (2001) bestätigt. Es konnte herausgefunden werden, dass 85% der phenolischen Säuren und Flavonoide gebunden vorliegen.

Bei Peak 5, 7, 11, 14 und 16 handelt es sich um p-Cumarsäurederivate. In Preiselbeeren und Cranberry erweist sich Peak 14 in den Profilen als dominante Verbindung. Neben Peak 7 und 16 konnte dieser als ein Cumarsäurehexoside zugeordnet werden. Ein Cumarsäurehexosid ist in Cranberrys und Preiselbeeren auch in der Literatur bereits beschrieben (Borges et al., 2010; Mane et al., 2011). Bei Peak 5 könnte es sich um ein p-Cumarsäuredihexosid ($[M-H]^-$ mit $m/z = 487$) handeln. Das wird durch zweimaligen Neutral Loss einer Hexose (162 Da) angezeigt. Peak 11 weist Mutterionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 609$ auf, aus denen Tochterionen $m/z = 487$ und 325 hervorgehen. Sie deuten auf ein Cumarsäuredihexosid-Derivat hin.

Die Studien über die in Cranberrys vorherrschenden Phenolcarbonsäuren zeigen verschiedene Ergebnisse. In zwei Studien wurde ebenfalls p-Cumarsäurehexosid als das mit dem höchsten Anteil an den Hydroxyzimtsäureglykosiden zugeordnet (Borges et al., 2010; Marwan & Nagel, 1982). Das steht im Gegensatz zu einer anderen Studie, in der ein Kaffeesäureglucosid als dominante Verbindung beschrieben ist (Chu et al., 1973).

Peak 6, 8, 12, 13, 15, 17, 20 und 26 sind vermutlich Derivate der Kaffeesäure. Darunter wurden drei Hexoside (Peak 6, 8 und 12) mit Mutterionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 341$ zugeordnet. Ihr Vorkommen in *Vaccinium*-Spezies ist bereits in der Literatur dokumentiert (Mane et al., 2011; Obón et al., 2011). Mit einem authentischen Standard konnte Peak 15 als 5-Kaffeoylchinasäure identifiziert werden. Peak 20 mit Mutterionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 353$ ist ebenfalls ein Isomer der Chlorogensäure. Beide Ester zeigen eine 5-OH-Verknüpfung, wobei Peak 15 das *cis*- und Peak 20 das *trans*-Isomer ist (Zuordnung s. Abschnitt 2.4.4, S. 106). Chlorogensäure (*cis*-5-CQA) ist im Profil der Moosbeeren der größte Peak bei 310 nm. Sie wird aber auch in allen anderen Beeren identifiziert. In allen Beeren außer der Cranberry werden beide Isomere detektiert. Das Vorkommen von Chlorogensäuren in den drei *Vaccinium*-Spezies wird auch in anderen Studien bestätigt (Mane, et al., 2011; Ehala, et al., 2005; McKay, et al., 2007).

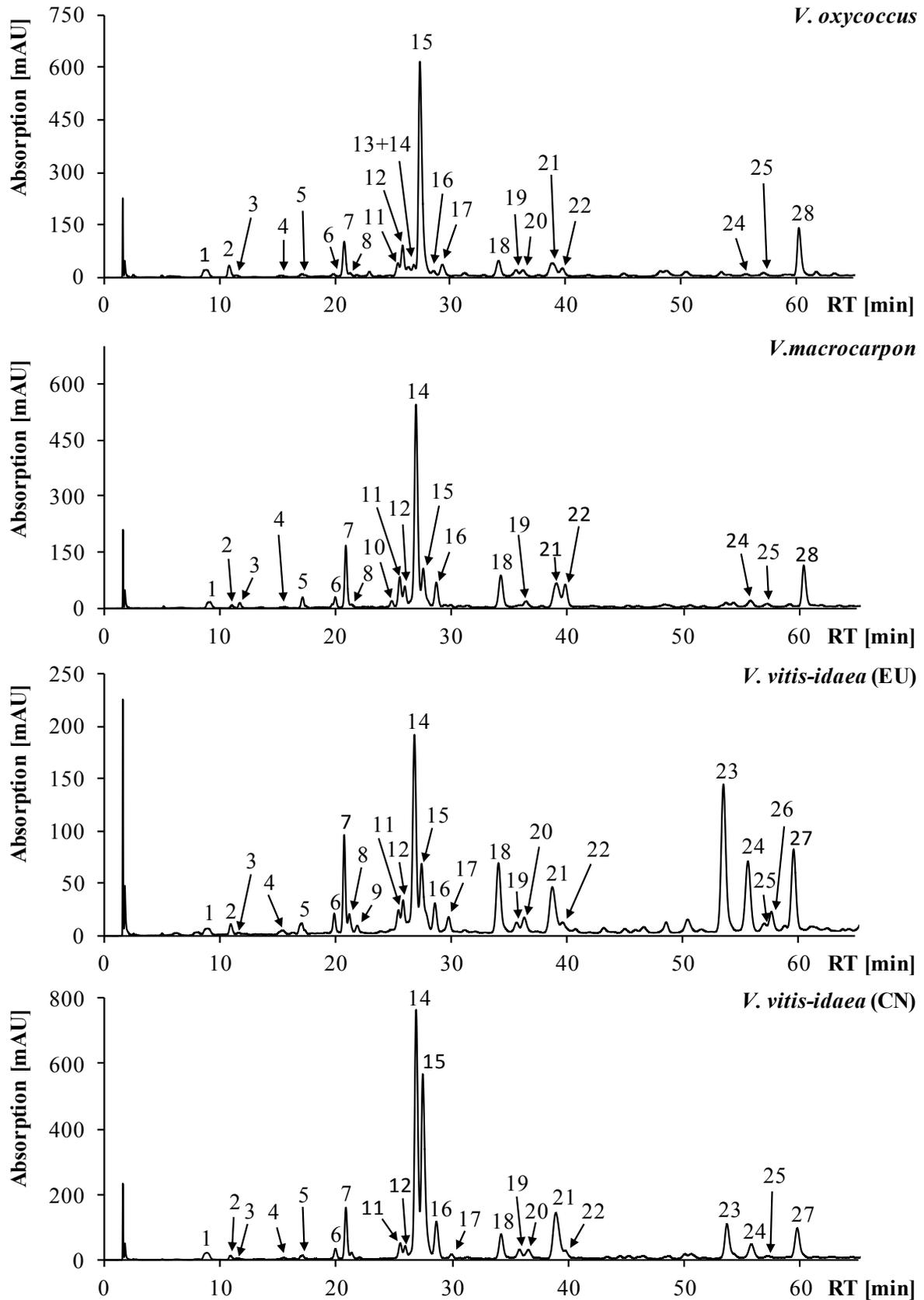


Abbildung 34: HPLC-UV Chromatogramm der Beerenextrakte bei 310 nm. Die Numerierung der Peaks bezieht sich auf Tabelle 16 (S. 80)

Tabelle 16: Massenspektrometrische Daten der bei 310 nm detektierten Verbindungen in Cranberrys, Moosbeeren und Preiselbeeren. Die Peaknumerierung bezieht sich auf Abbildung 34 (S. 79)

Peak	RT [min]	Verbindung	λ_{\max}	[M-H] ⁻	Fragmente
1	9,08	Epigallocatechin	229, 284	593	MS ² [593]: 441, 315 MS ³ : [593→441]: 315, 289, 153, 423
2	11,02	Protocatechusäure	225, 260, 294	153	MS ² [153]: 109, 153 MS ³ : [153→109]: -
3	11,69	Protocatechusäure-hexosid	-	315	MS ² [315]: 153, 165, 109, 225 MS ³ : [315→153]: 109, 153
4	15,57	Protocatechusäure-hexosid	225, 260, 294	315	MS ² [315]: 153, 165, 109, 225 MS ³ : [315→153]: 109, 123, 153
5	17,13	p-Cumarsäuredihexosid	228, 307	487	MS ² [487]: 325 MS ³ : [487→325]: 163
6	19,95	Kaffeesäurehexosid	226, 329	341	MS ² [341]: 179, 161, 203, 135 MS ³ : [341→179]: 135
7	20,86	Cumarsäurehexosid	227, 296	385	MS ² [385]: 325, 163 MS ³ : [385→325]: 163
8	21,35	Kaffeesäurehexosid	226, 290, 310	341	MS ² [341]: 179, 161, 203, 135 MS ³ : [341→179]: 135
9	22,03	Proanthocyanidin-Dimer	227, 280	577	MS ² [577]: 425, 407, 451, 289 MS ³ : [577→425]: 407, 381, 273, 341
10	24,82	Unbekannt	-	343	MS ² [343]: 283, 121, 161, 221 MS ³ : [343→283]: 121, 137, 161
11	25,19	Cumarsäurederivat	305	609	MS ² [609]: 325, 487 MS ³ : [609→325]: 163, 119
12	25,95	Kaffeesäurehexosid	226, 329	341	MS ² [341]: 179, 161, 203, 135 MS ³ : [341→179]: 135
13	26,40	3,4-Dikaffeoylchinasäure	226, 293, 330	515	MS ² [515]: 353, 323, 455, 425, 191 MS ³ : [515→353]: 191
14	26,92	Cumarsäurehexosid	296, 315	325	MS ² [325]: 163, 145, 187, 119 MS ³ : [325→163]: 119
15	27,54	<i>cis</i> -5-CQA	245, 297, 331	353	MS ² [353]: 191, 179 MS ³ : [353→191]: 127, 173, 85, 93
16	28,67	Cumarsäurehexosid	296, 313	325	MS ² [325]: 163, 145, 187, 119 MS ³ : [325→163]: 119
17	29,36	Chlorogensäurederivat	230, 285, 339	475	MS ² [475]: 415, 353 MS ³ : [475→415]: 293, 121, 149, 353, 191
18	34,25	Ferulasäurehexosid	236, 325	355	MS ² [355]: 194 MS ³ : [355→194]: 193, 217, 175, 235
19	35,71	Unbekannt	300, 307	369	MS ² [369]: 207, 192 MS ³ : [369→207]: 192, 193
20	36,42	<i>trans</i> -5-CQA	245, 297, 331	353	MS ² [353]: 191, 179 MS ³ : [353→191]: 127, 173, 85, 93
21	38,90	p-Cumarsäure	228, 312	163	-
22	39,81	Sinapinsäurehexosid	229, 283, 330	385	MS ² [385]: 223, 245, 205 MS ³ : [385→223]: 164, 179, 145
23	53,62	Ferulasäure	229, 300, 322	193	-
24	55,81	Zimtsäurehexosid	226, 284	369	MS ² [369]: 309, 147 MS ³ : [369→309]: 147, 103, 189
25	57,28	Sinapinsäure	220, 302, 325	223	-
		Syringasäurehexosid		719/359	MS ² [719]: 359 MS ³ : [719→359]: 197, 153
26	57,77	Kaffeoylarbutin	224, 300, 326	433	MS ² [433]: 323, 161, 179, 203 MS ³ : [433→323]: 161, 179, 135, 107
27	59,70	Ferulasäurehexosid	224, 295, 314	355	MS ² [355]: 194 MS ³ : [355→194]: 193, 217, 175, 235
28	62,19	Myricetinhexosid	227, 260, 356	479	MS ² [479]: 316, 317 MS ³ : [479→316]: 271, 287, 179, 151

Bei Peak 17 mit Mutterionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 475$ und einem Fragment $m/z = 353$, das wiederum ein Fragment $m/z = 191$ zeigt, kann es sich um ein Derivat einer Kaffeoylchinasäure handeln. Der Neutral Loss beträgt 122 Da, weshalb keine weitere Aussage zur genaueren Identifizierung getroffen werden kann. Verbindungen mit Mutterionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 475$ wurden von Garzón et al. (2010) in *Vaccinium meridionale* Swartz ebenfalls nicht genauer beschrieben sondern nur als Kaffeesäurederivate bezeichnet. Peak 13 mit Ionen $[M-H]^-$ bei $m/z = 515$, kann anhand der Fragmentierung als eine 3,4-Dikaffeoylchinasäure eingeordnet werden (Zuordnung der Verknüpfung s. Abschnitt 2.4.4, S. 106 ff.). Sie wurde nur in Moosbeeren detektiert.

Peak 26 kann als Kaffeoylarbutin zugeordnet werden. Die Mutterionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 433$ zeigen die in der Literatur als typisch beschriebenen Fragmente mit $m/z = 323, 161, 179$ und 203. Es wurde nur in europäischen Preiselbeeren detektiert. Arbutin sowie der Ester mit Kaffeesäure wurden bereits in Preiselbeeren und deren Blättern identifiziert (Mane et al., 2011; Drathschmidt & Zechner, 1938; Ek et al., 2006).

Neben der freien Ferulasäure und Sinapinsäure wurden auch deren Glykoside gefunden (Peak 18, 22 und 27). Es handelt sich jeweils um Hexoside. In der Preiselbeere konnten zwei Ferulasäurehexoside detektiert werden, wohingegen in allen anderen Beeren nur eines (Peak 18) gefunden wurde. Mane et al. (2011) beschreiben in Preiselbeeren ebenfalls zwei Hexoside, wohingegen Ek et al. (2006) noch ein drittes Hexosid detektiert haben.

Die Profile der Beeren sind sich sehr ähnlich. Der größte Unterschied zwischen den Profilen von Moosbeere und Cranberry ist das Vorkommen von Chlorogensäure (5-CQA) und Cumarsäurehexosid. Als Peak mit der größten Intensität konnte in Moosbeeren die 5-Chlorogensäure (Peak 15) identifiziert und in Cranberry das Cumarsäurehexosid (Peak 14) zugeordnet werden. In Moosbeeren wurde Dikaffeoylchinasäure detektiert jedoch nicht in Cranberrys. Weitere Unterschiede sind in den beiden Profilen nicht zu finden. Zur Unterscheidung von Preiselbeere zu Moosbeere und Cranberry kann die freie Ferulasäure (Peak 23), sowie das Ferulasäurehexosid (Peak 27) herangezogen werden. Sie kommen nur in Preiselbeeren vor. Die Ergebnisse bestätigten sich in allen der untersuchten Sorten, Herkünfte und Jahrgänge.

Insgesamt gestaltet sich die Unterscheidung anhand der Profile der phenolischen Säuren jedoch schwierig. Die große Anzahl an sehr kleinen Peaks erschwert die Differenzierung. Eine Basislinientrennung von Cumarsäurehexosid und der 5-Chlorogensäure konnte auch mit anderen RP-Säulen nicht erfolgen und ebenfalls coeluierten einige Verbindungen (auch mit anderen Verbindungsklassen). Eine Bildung von Verhältnissen der Peakflächen zur Bestimmung der Authentizität ist folglich nicht möglich. Damit können Variationen in den einzelnen Sorten nicht berücksichtigt werden und es könnte beispielsweise eine Mischung aus Cranberry und Moosbeere nicht eindeutig erkannt werden. Die Unterschiede in den Profilen können folglich bei der Bestimmung der Authentizität nur ein Indiz darstellen.

Cumaroyliridoidglykoside

Wie bereits bei Turner et al. (2007) und Jensen et al. (2002) konnte in *V. macrocarpon*, *V. oxycoccus* und in *V. vitis-idaea* verschiedene Cumaroyliridoidglykoside identifiziert werden. In allen drei Beeren wurden jeweils die *cis*- und *trans*-Isomere von Cumaroyl-monotropein und Cumaroyl-dihydromonotropein detektiert (s. Abbildung 35, S. 82), so dass in dieser Substanzklasse keine Unterschiede zu finden sind. Es wurde auch bereits herausgefunden, dass diese Verbindungen keinen antiadhäsiven Effekt gegen *E. coli* zeigen (Turner et al., 2007).

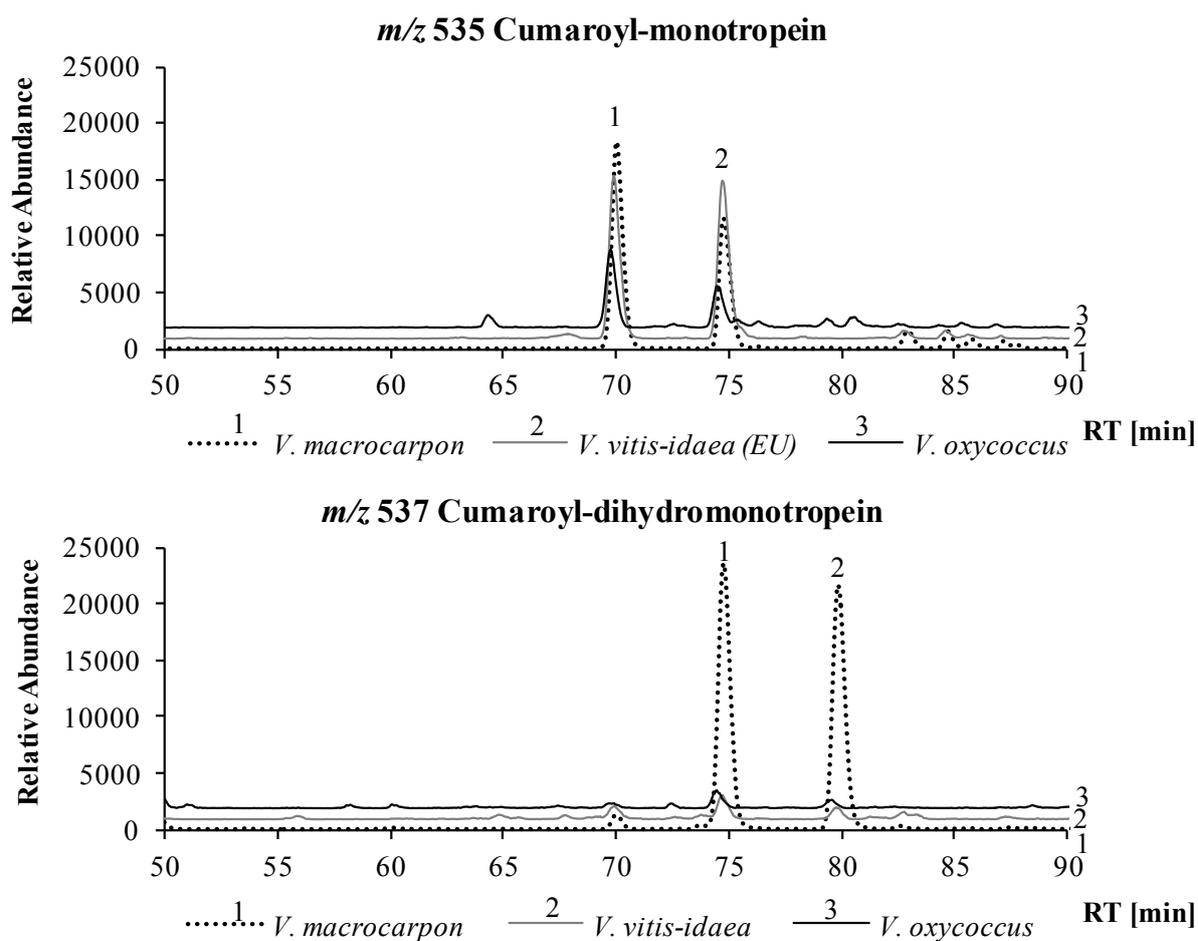


Abbildung 35: Vergleich der Massenspuren von Cumaroyliridoidglykoside der drei *Vaccinium*-Spezies (1= *cis*-Form; 2 = *trans*-Form)

2.4 Authentizitätsbestimmung von Heidelbeere und Blaubeere

Blaubeeren (*V. corymbosum* und *V. angustifolium*) und Heidelbeeren (*V. myrtillus*) werden gerne miteinander verwechselt, da sie sich sehr ähnlich sehen und auch ihre Namensgebung zu Missverständnissen führen kann. Umgangssprachlich wird die Blaubeere häufig Heidelbeere genannt oder umgekehrt. Bei Kulturheidelbeeren handelt es sich um eine Bezeichnung, die oftmals im Handel verwendet wird, allerdings bleibt unklar, welche botanische Bezeichnung sich dahinter verbirgt.

In Europa sind vorwiegend die Heidelbeeren (*Vaccinium myrtillus*) bekannt und auch dort beheimatet, während in Nordamerika die Blaubeeren zu finden sind. Aufgrund der hohen Nachfrage an Beerenobst werden überwiegend kultivierte Blaubeeren im Handel angeboten. Wilde Heidelbeeren sind nur selten zu finden. Bislang bietet das Anthocyanprofil eine Identitätsbestimmung der *Vaccinium*-Arten (Primetta et al., 2013; Hong & Wrolstad, 1990), jedoch unterscheiden sich die Beeren auch in anderen Inhaltsstoffen. Diese Arbeit gibt einen umfassenden Vergleich der phenolischen Inhaltsstoffe der kultivierten sowie wilden Heidel- und Blaubeeren und bietet damit zusätzliche nützliche Parameter, die zu einer Authentizitätsbestimmung beitragen.

Da Verwechslungen der Andenheidelbeere (*V. floribundum*) mit den anderen in dieser Arbeit genannten Heidel- und Blaubeeren bekannt sind, soll lediglich ihr Potential an wertgebenden Inhaltsstoffen herausgestellt werden. Die Andenheidelbeere wird nicht unter dem Aspekt der Authentizität diskutiert. Studien über die Andenheidelbeere sind rar und in Bezug auf die phenolischen Inhaltsstoffe gibt es noch weiterhin Forschungsbedarf.

Um Verwechslungen zu vermeiden, werden in dieser Arbeit folgende Bezeichnungen für die Beeren verwendet:

Heidelbeeren = *V. myrtillus*

Kulturblaubeeren = *V. corymbosum*

Wilde Blaubeeren = *V. angustifolium*

Andenheidelbeere = *V. floribundum*

Die analysierten Beeren sind in Tabelle 28 (S. 120) aufgelistet.

2.4.1 Proanthocyanidinprofile von Heidelbeere und Blaubeere

Analog zu den bisher beschriebenen *Vaccinium*-Spezies wurde auch ein Vergleich der Proanthocyanidinprofile der Heidelbeeren und Blaubeeren vorgenommen. Es wurden hierbei Monomere bis Tetramere berücksichtigt und sich an bereits in der Literatur bestehenden Daten orientiert.

Insgesamt gibt es zu den Proanthocyanidinen in Blau- und Heidelbeeren weitaus weniger Studien als zu Cranberrys. Zum Vorkommen einzelner Isomere gibt es selten Informationen, jedoch existieren Studien zu Gesamtgehalten. Insgesamt ist der Proanthocyanidingehalt in *V. angustifolium* (332 mg/ 100 g) höher als der in *V. corymbosum* (180 mg/ 100 g) (Prior & Gu, 2005). Der Gehalt von Heidelbeeren liegt zwischen 102-192 mg/ 100 g (FG) (Hellström et al., 2009). In Blaubeeren und Heidelbeeren sind vorwiegend Procyanidine enthalten. Prodelphinidine machen nur einen geringen Anteil aus (Määttä-Riihinen et al., 2004). In beiden Blaubeerspezies sind Procyanidine bis Decamere beschrieben (Rodriguez-Mateos et al., 2012). Den größten Anteil zeigen hierbei Trimere und Tetramere (Kalt et al., 2008). Prior et al. (2001) konnten in ihren Untersuchungen feststellen, dass in *V. angustifolium* vorwiegend B-Typ verknüpfte Procyanidine bis Octamere enthalten sind. In Studien von Gu et al. (2001) wurden auch geringe Anteile an A-Typ-verknüpften Dimeren und Trimeren beschrieben, jedoch konnten keine A-Typ-Verknüpfungen bei höhermolekularen Procyanidinen detektiert werden. In *Vaccinium myrtillus* wurden erstmals in einer Studie von Määttä-Riihinen et al. (2005) neben B-Typ-verknüpften Procyanidine auch A-Typ-verknüpfte beschrieben.

Zu den Proanthocyanidinen in der Andenheidelbeere gibt es bislang keine weiteren Informationen als die Ergebnisse aus den Studien von Vasco et al. (2009) und Schreckinger et al. (2010). Vasco et al. (2009) haben in *V. floribundum* nur Epicatechin, ein A-Typ-Dimer und ein -Trimer gefunden. Schreckinger et al. (2010) deuten auf Procyanidine bis Hexamer und eine höhermolekulare Fraktion hin, machen jedoch keine Angaben zu einzelnen Isomeren und Fragmentierungen im MS.

Tabelle 17 zeigt die massenspektrometrischen Daten der in den Heidelbeeren und den Blaubeeren detektierten Proanthocyanidine. Insgesamt wurden 33 Verbindungen (Monomere, Dimere, Trimere, Tetramere und Cinchonaine) zugeordnet (Massenspuren s. Anhang A.3, S. 148 ff.). Es wurden 12 Proanthocyanidine in *V. floribundum*, 26 in *V. myrtillus*, 20 in *V. angustifolium* und 19 in *V. corymbosum* detektiert. Procyanidin Dimer A2, B1, B2, Catechin und Epicatechin konnten mit authentischen Standards identifiziert werden.

Zuordnung der monomeren Flavan-3-ole

In allen Beeren konnten Catechin und Epicatechin identifiziert werden. Gallocatechin und Epigallocatechin wurden nur in *V. myrtillus* gefunden. Dies ist bereits in der Literatur beschrieben worden (Juadjur & Winterhalter, 2012).

Zuordnung von A-Typ- und B-Typ-verknüpften Dimeren

Neben Procyanidin B1 und B2 konnte noch ein anderes Dimer zugeordnet werden. Die Molekülonen $[M-H]^-$ mit $m/z = 577$ zeigen im MS^2 die gleichen Fragmente $m/z = 425, 407, 451, 289, 559$ wie die der Standards B1 und B2.

Außer den Procyanidindimeren konnten auch Prodelphinidindimere mit Mutterionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 593$ detektiert werden. Die Dimere zeigen Hauptfragmente mit $m/z 467, 425, 407$ und 289 . Zusätzlich wurde in der Heidelbeere ein Dimer aus zwei (Epi)gallocatechin-Einheiten gefunden. Die Mutterionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 609$ zeigen die charakteristischen Fragmente $m/z = 441, 423, 483, 305$. Die Fragmentierung ist bereits von Friedrich et al. (2000) beschrieben worden. In beiden Blaubeeren wurde ein Dimer ($m/z 593$) detektiert, wohingegen in der Heidelbeere vier Isomere gefunden wurden.

Procyanidin A2 wurde in wilden Blaubeeren und Andenheidelbeeren detektiert, jedoch nicht in Heidelbeeren und Kulturblaubeeren. Lowenthal et al. (2012) konnten jedoch A2 nicht nur in Kulturblaubeeren sondern auch in Heidelbeeren identifizieren. In allen Beeren überwiegt deutlich der Anteil an B-Typ-Dimeren (Prior & Gu, 2005). In beiden Blaubeerspezies sind Dimere als die Verbindungen mit dem quantitativ höchsten Anteil an den Flavanolen beschrieben (Rodriguez-Mateos et al., 2012).

Zuordnung von A-Typ- und B-Typ-verknüpften Trimeren

Insgesamt konnten in dieser Arbeit zwei unterschiedliche A-Typ-Trimere detektiert werden, die jeweils die A-Typ-Verknüpfung zwischen der oberen und mittleren Einheit haben. In allen Blaubeeren konnten beide Trimere zugeordnet werden, wobei *V. corymbosum* lediglich Spuren enthält (schwache Signale zur selben Retentionszeit). Im Vergleich zu Cranberrys weisen auch *V. angustifolium* jedoch nur einen geringen Anteil an A-Typ Procyanidinen auf (Schmidt, et al., 2004).

In Heidelbeeren wurden A-Typ-Procyanidine zum ersten Mal von Määttä-Riihinen et al. (2005) beschrieben. In dieser Studie wurden zwei A-Typ-Dimere und drei -Trimere gefunden. In einer weiteren Studie von Hokkanen et al. (2009) wurden in den Blättern von Heidelbeeren zwei A-Typ-Trimere beschrieben.

Insgesamt wurden in dieser Arbeit fünf B-Typ-Trimere detektiert. Die Mutterionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 865$ zeigen charakteristische MS^2 -Fragmente $m/z = 695, 713, 739$ und 577 , wie sie auch von Määttä-Riihinen et al. (2005) beschrieben werden.

In Heidelbeeren wurde neben den Procyanidin-Trimeren zusätzlich ein Trimer mit Mutterionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 881$, bestehend aus einer (Epi)gallocatechin- und zwei (Epi)catechin-Einheiten gefunden. Die Fragmentierung ist analog zu der in der Literatur beschriebenen (Papagiannopoulos, 2008).

Zuordnung von A-Typ- und B-Typ-verknüpften Tetrameren

Ausschließlich in der *V. floribundum* und *V. myrtillus* konnten A-Typ-verknüpfte Tetramere gefunden werden. Darunter wurden in Heidelbeeren ein Isomer und in Andenheidelbeeren zwei Isomere detektiert. Alle anderen Beeren weisen nur B-Typ-

verknüpfte Tetramere auf. Die Heidelbeere hat zwei B-Typ-Tetramere genau wie die Andenheidelbeere. Die wilden Blaubeeren haben mit drei Isomeren eines weniger als die kultivierten Blaubeeren. Sie kommen sowohl als einfach geladene, als auch als doppelt geladene Ionen vor.

Zuordnung von Cinchonainen und Flavanolglykosiden

Wie bereits in Abschnitt 2.3.1.2 beschrieben wurden die Cinchonain Isomere bislang in den Blättern von Heidelbeeren identifiziert (Hokkanen et al., 2009). Über das Vorkommen in den Früchten gibt es keine Informationen. In den untersuchten Blau- und Heidelbeeren wurden, mit Ausnahme der Andenheidelbeere, drei Cinchonain I-Isomere detektiert. Der Heidelbeereextrakt weist einen weiteren Peak mit Mutterionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 451$ auf. Dieser erwies sich auf Grund der Fragmentierung und des Neutral Losses von 162 Da als ein (Epi)catechinhexosid. Das Vorkommen von Flavanolglykosiden in Heidelbeeren ist in der Literatur bislang noch nicht beschrieben worden.

Fazit

Insgesamt zeigen alle Beeren ein ähnliches Proanthocyanidinspektrum. Heidelbeeren haben hierbei die meisten Prodelphinidin-Isomere, als einzige die Monomere (Epi)gallocatechin und ein (Epi)catechinhexosid. Folglich lassen sich Heidelbeeren in diesen Untersuchungen anhand der Procyanidine von Blaubeeren abgrenzen. Weiterhin müssten zur Untermauerung der Resultate auch verschiedene Sorten betrachtet werden, die für diese Arbeit nicht zur Verfügung standen. Die beiden Blaubeeren lassen sich über ihr Proanthocyanidin-Profil nicht eindeutig zuordnen, da sie kaum Unterschiede zeigen. In *V. floribundum* wurden zehn weitere Procyanidine detektiert, die in der Literatur bislang noch nicht beschrieben sind. Hierunter sind Catechin, Procyanidin B2 und A2, ein Prodelphinidindimer, ein weiteres A-Typ-Trimer sowie zwei Tetramere, ein B-Typ-Trimer und zwei Tetramere.

Tabelle 17: Massenspektrometrische Daten der in Heidelbeeren und Blaubeeren detektierten Flavane

RT [min]	Verbindung	MS	Fragmente	<i>Vaccinium</i> Spezies			
				<i>floribundum</i>	<i>myrtillus</i>	<i>angustifolium</i>	<i>corymbosum</i>
Flavan 3-ole							
13.49	Gallocatechin	305	MS ² [305]: 179, 221, 219, 261, 165 MS ³ [305 →179]: 164, 137, 52		X		
24.98	Catechin	289	MS ² [289]: 245, 205, 179 MS ³ [289 →245]: 203, 227	X	X	X	X
25.00	Epigallocatechin	305	MS ² [305]: 219, 179, 221, 261, 165 MS ³ [305 →219]: 177, 201		X		
40.14	Epicatechin	289	MS ² [289]: 245, 205, 179 MS ³ [289 →245]: 203, 227	X	X	X	X
Dimere							
9.70	(E)GC-(E)C	593	MS ² [593]: 441, 575, 511, 289, 423 MS ³ [593 →441]: 315, 289, 297, 161	X	X	X	X
15.14	(E)GC-(E)C	593	MS ² [593]: 425, 289, 407, 467, 303 MS ³ [593 →425]: 381, 315, 381		X		
16.35	(E)GC-(E)GC	609	MS ² [609]: 441, 423, 483, 305 MS ³ [609 →441]: 423, 355, 273		X		
19.93	(E)GC-(E)C	593	MS ² [593]: 425, 407, 289, 467, 575 MS ³ [593 →425]: 407, 273, 111		X		
22.67	(E)GC-(E)C	593	MS ² [593]: 425, 407, 289, 467 MS ³ [593 →425]: 407, 255		X		
23.13	Procyanidin B1	577	MS ² [577]: 425, 407, 451, 289; 559 MS ³ [577 →425]: 407, 273		X	X	X
35.16	Procyanidin B2	577	MS ² [577]: 425, 407, 451, 289; 559 MS ³ [577 →425]: 407, 273	X	X	X	X
54.48	(E)C-(E)C	577	MS ² [577]: 425, 407, 451, 289; 559 MS ³ [577 →425]: 407, 273			X	X
71.40	Procyanidin A2	575	MS ² [575]: 423, 449, 539, 289; 407; 285 MS ³ [575 →423]: 285, 405	X		X	
Trimere							
12.11	B-Typ-Trimer	865	MS ² [865]: 695, 739, 575, 713, 533, 587, 425 MS ³ [865 →695]: 543, 525, 586, 289		X	X	
29.46	B-Typ-Trimer	865	MS ² [865]: 695, 739, 577, 451, 407, 713, 286 MS ³ [865 →695]: 543 MS ³ [865 →739]: 695, 245, 559		X	X	X
31.00	B-Typ-Trimer	865	MS ² [865]: 695, 739, 577, 713, 451 MS ³ [865 →695]: 543, 243		X	X	X
34.36	B-Typ-Trimer	865	MS ² [865]: 695, 739, 713, 577, 587, 575, 407, 451, 269 MS ³ [865 →695]: 543, 577, 451, 405		X	X	X
43.17	A-Typ-Trimer	863	MS ² [863]: 711, 573, 451, 411, 693 MS ³ [863 →711]: 693, 559, 549	X	X	X	X

45.19	(E)GC-(E)C-(E)C	881	MS ² [881]: 695, 755, 577, 863, 591 MS ³ [881 →695]: 543, 451, 255	X			
50.36	A-Typ-Trimer	863	MS ² [863]: 711, 573, 451, 411, 559, 693, 289 MS ³ [863 →711]: 693, 559, 541, 407	X	X	X	X
51.76	B-Typ-Trimer	865	MS ² [865]: 695, 739, 577, 713, 575, 587, 425, 407 MS ³ [865 →695]: 543, 451, 387, 289, 677	X	X	X	X
Tetramere							
19.82	A-Typ-Tetramer	1151	MS ² [1151]: 863, 711, 1025, 981, 531, 451 MS ³ [1151 →863]: 711, 573, 411, 451, 531, 693, 737	X			
23.20	B-Typ-Tetramer	1153	MS ² [1153]: 1027, 863, 983, 575, 739, 1135 MS ³ [1153 →863]: 575 MS ³ [1153 →1027]: 865, 456			X	X
29.80	B-Typ-Tetramer	1153	MS ² [1153]: 865, 983, 1027, 863, 575, 739, 1135 MS ³ [1153 →865]: 695, 577, 413, 363, 739			X	X
42.53	B-Typ-Tetramer	1153	MS ² [1153]: 983, 865, 863, 1027, 575, 1135, 738 MS ³ [1153 →983]: 541, 813, 831, 407, 513	X	X	X	X
52.01	A-Typ-Tetramer	1151	MS ² [1151]: 861, 999, 739, 981, 577, 449 MS ³ [1151 →861]: 573, 709, 449, 691	X	X		
56.06	B-Typ-Tetramer	1153	MS ² [1153]: 865, 1027, 983, 575, 739, 701, 1135 MS ³ [1153 →865]: 695, 577, 739, 567	X	X		X
(Epi)catechinhexosid							
27,63	(Epi)catechinhexosid	451	MS ² [451]: 289 MS ³ [451 →289]: 245, 206, 271, 179, 165	X			
Cinchonain I-Isomere							
64,02	Cinchonain I-Isomer	451	MS ² [451]: 341, MS ³ [451 →341]: 217, 231, 189, 323, 297	X			
77,75	Cinchonain I-Isomer	451	MS ² [451]: 341, MS ³ [451 →341]: 217, 231, 189, 323, 297			X	X
79,10	Cinchonain I-Isomer	451	MS ² [451]: 341, MS ³ [451 →341]: 217, 231, 189, 323, 297			X	X
81,55	Cinchonain I-Isomer	451	MS ² [451]: 341, MS ³ [451 →341]: 217, 231, 189, 323, 297	X	X		X
94,96	Cinchonain I-Isomer	451	MS ² [451]: 341, MS ³ [451 →341]: 217, 231, 189, 323, 297	X			

2.4.2 Anthocyane: Heidelbeere und Blaubeere

2.4.2.1 Anthocyanprofile

Blau- und Heidelbeeren weisen ein wesentlich breiteres Anthocyanpektrum im Vergleich zu dem der roten *Vaccinium*-Spezies auf. Die Heidelbeere ist dabei eine besonders reichhaltige Quelle, da die Anthocyane nicht nur in der Schale, sondern auch im Fruchtfleisch sitzen (Kalt et al., 1999). Abbildung 36 (S. 90) zeigt HPLC-Chromatogramme von Heidelbeer- sowie unterschiedlichen Blaubeerextrakten bei 520 nm. In Tabelle 18 (S. 91) sind die Daten der massenspektrometrischen Detektion der insgesamt 25 zugeordneten Anthocyane zu finden.

Cyanidin, Peonidin und Delphinidin-3-O-glucoside ließen sich mittels authentischer Standards identifizieren. Alle anderen Anthocyane wurden aufgrund ihres Retentionsverhalten, der Elutionsreihenfolge, der massenspektrometrischen Daten und bisher in der Literatur beschriebenen Studien zugeordnet. Beim Literaturvergleich zur Zuordnung der Peaks wurde sich zu meist an der Studie von Wu und Prior (2005) orientiert, da dieselbe HPLC-Säule verwendet wurde.

In der Literatur sind in Heidelbeeren bislang als mit Anthocyanen verknüpfte Zucker Glucose, Galactose und Arabinose beschrieben (Müller et al., 2012; Može et al., 2011; Kalt et al., 1999). Dies ist ebenfalls in Übereinstimmung mit den Untersuchungen von Wu und Prior (2005). Sie teilen die Anthocyanprofile von Früchten in folgende zwei Gruppen ein: „sugar-determined group“ und „anthocyanidin-determined group“. Heidelbeeren und Blaubeeren fallen hierbei in die erste Gruppe. Sie haben unterschiedliche Anthocyane die immer dasselbe Muster an Zuckern aufweisen. In der zweiten Gruppe ist nur ein Anthocyanidin dominant, wobei die Zucker variieren und weitere Anthocyanidine, wenn überhaupt, nur in geringen Mengen vorkommen. Im Fall der Blaubeeren und Heidelbeeren wird deshalb davon ausgegangen, dass es sich bei den Zuckerresten um Glucose, Galactose und Arabinose handelt (Müller et al., 2012; Wu & Prior, 2005). Anhand des Retentionsverhaltens kann die Art des Zuckers zugeordnet werden, wobei das Galactosid vor dem Glucosid und das Glucosid vor dem Arabinosid eluiert.

Die massenspektrometrische Detektion gibt nicht nur eine Information über die Art des Aglykons, sondern kann auch Aufschluss über die Position des Zuckers geben. Giusti et al. (1999) untersuchten das Fragmentierungsverhalten unterschiedlicher Anthocyane mittels ESI- und Tandem-Massenspektrometrie. Es konnte gezeigt werden, dass C3-substituierte Anthocyane mit Mono- oder Disacchariden als MS²-Fragment lediglich das Aglykon aufweisen. Somit ist es wahrscheinlich, dass es sich bei allen hier zugeordneten Anthocyanen um 3-O-Glykoside handelt.

Unter Verwendung der bisher dargestellten Informationen, konnten in Heidelbeeren jeweils das 3-O-galactosid, -glucosid sowie das -arabinosid von Cyanidin, Delphinidin, Petunidin, Peonidin und Malvidin zugeordnet werden. Es wurden insgesamt 15 unterschiedliche Anthocyane detektiert. Dies stimmt auch mit den Ergebnissen anderer Studien überein (Müller et al., 2012; Može et al., 2011; Kalt et al., 1999; Nakajima et al., 2004; Nyman & Kumpulainen, 2001).

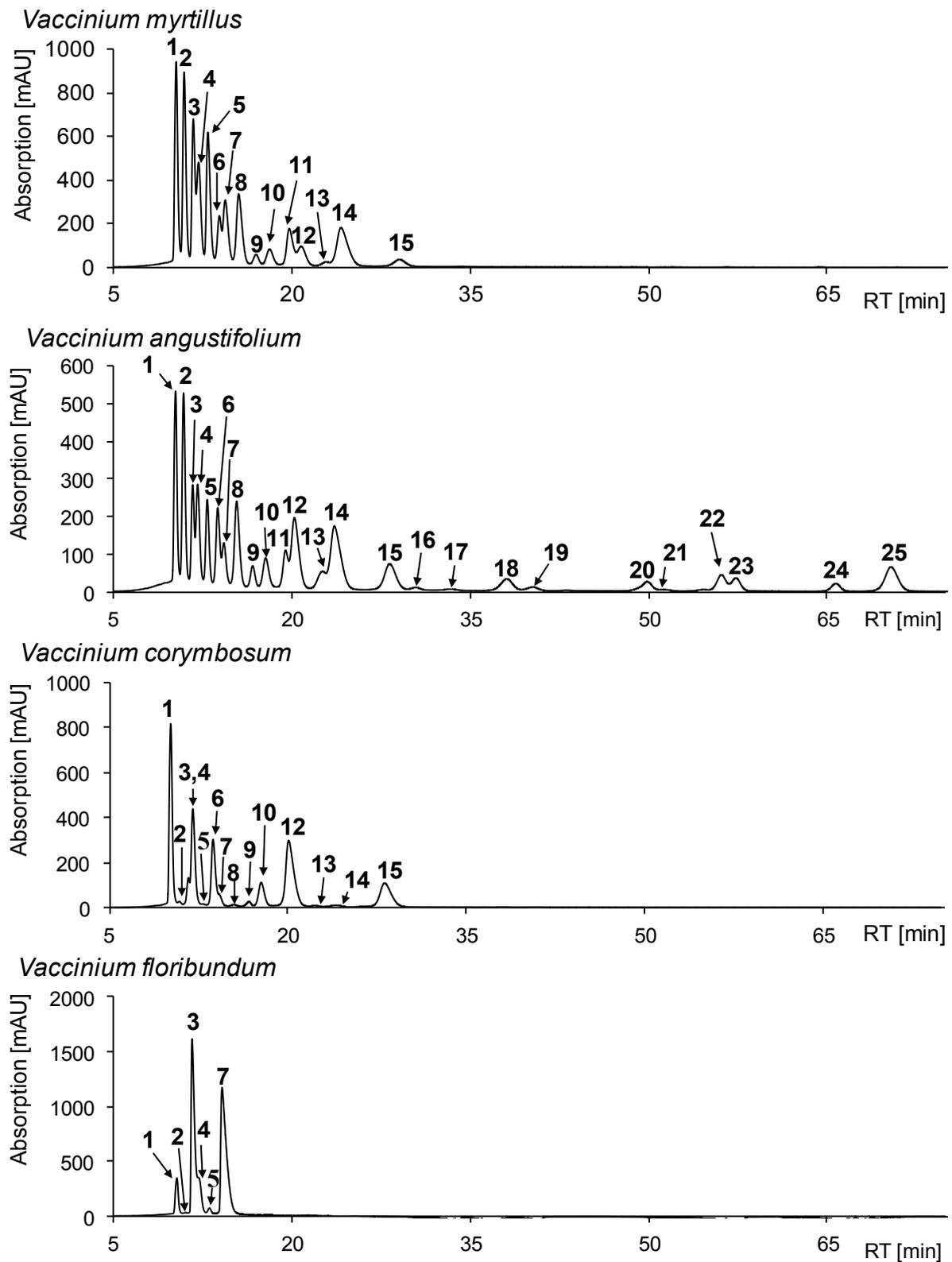


Abbildung 36: HPLC-UV Chromatogramme von Heidelbeer- und Blaubeerextrakten bei 520 nm. Die Numerierung der Peaks bezieht sich auf Tabelle 18 (S. 91)

Tabelle 18: Massenspektrometrische Detektion der Anthocyane in Heidel- und Blaubeerextrakten. Die Numerierung der Peaks bezieht sich auf Abbildung 36 (S. 90)

Peak Nr.	RT [min]	Verbindung	λ_{\max}	[M+H] ⁺	Fragmentierung
1	10,16	Delphinidin-3-O-galactosid	277, 524	465	MS ² [465]: 303 MS ³ : [465→303]: 257, 205, 187
2	10,80	Delphinidin-3-O-glucosid	277, 524	465	MS ² [465]: 303 MS ³ : [465→303]: 257, 205, 187
3	11,57	Cyanidin-3-O-galactosid	280, 517	449	MS ² [449]: 287 MS ³ : [449→287]: 213, 231 176, 137, 121
4	12,03	Delphinidin-3-O-arabinosid	277, 524	435	MS ² [435]: 303 MS ³ : [435→303]: 257. 229, 145, 133
5	12,77	Cyanidin-3-O-glucosid	280, 517	449	MS ² [449]: 287 MS ³ : [449→287]: 213, 231 176, 137, 121
6	13,75	Petunidin-3-O-galactosid	276, 525	479	MS ² [479]: 317 MS ³ : [479→317]:302, 274, 246, 187
7	14,21	Cyanidin-3-O-arabinosid	280, 517	419	MS ² [419]: 287 MS ³ : [419→287]: 213, 231 176, 137, 121
8	15,30	Petunidin-3-O-glucosid	276, 525	479	MS ² [479]: 317 MS ³ : [479→317]:302, 274, 246, 187
9	16,85	Peonidin-3-O-galactosid	517	463	MS ² [463]: 301 MS ³ : [463→301]: 286
10	17,96	Petunidin-3-O-arabinosid	526	449	MS ² [449]: 317 MS ³ : [449→317]: 302, 274, 219
11	19,50	Peonidin-3-O-glucosid	277, 517	463	MS ² [463]: 301 MS ³ : [463→301]: 286, 268
12	20,55	Malvidin-3-O-galactosid	270, 526	493	MS ² [493]: 331 MS ³ : [493→331]: 299, 316, 287, 270, 241
13	22,50	Peonidin-3-O-arabinosid	-	433	MS ² [433]: 301 MS ³ : [433→301]: 286, 257
14	23,73	Malvidin-3-O-glucosid	277, 526	493	MS ² [493]: 331 MS ³ : [493→331]: 299, 316, 287, 270, 241
15	28,87	Malvidin-3-O-arabinosid	527	463	MS ² [463]: 331 MS ³ : [463→331]: 299, 316, 287, 270, 241
16	30,38	Cyanidin-(acetyl)-hexosid	284, 517	491	MS ² [491]: 287 MS ³ : [491→287]: 165
17	33,30	Petunidin-pentosid	280, 527	449	MS ² [449]: 317 MS ³ : [449→317]: 302, 274, 245
18	38,03	Delphinidin-(acetyl)-hexosid	265, 347, 525	507	MS ² [507]: 303 MS ³ : [507→303]: 257, 215, 150
19	40,22	Petunidin-(acetyl)-hexosid	278, 527	521	MS ² [521]: 317 MS ³ : [521→317]: 301, 257
20	49,87	Peonidin-(acetyl)-hexosid	281, 518	505	MS ² [505]: 301 MS ³ : [505→301]: 286, 245
21	51,23	Cyanidin-(acetyl)-hexosid	284, 517	491	MS ² [491]: 287 MS ³ : [491→287]: 213, 231
22	56,10	Malvidin-(acetyl)-hexosid	276, 348, 529	535	MS ² [535]: 331 MS ³ : [535→331]: 287, 299, 316, 269, 179
23	57,30	Petunidin-(acetyl)-hexosid	278, 350, 528	521	MS ² [521]: 317 MS ³ : [521→317]: 301, 257, 165
24	65,72	Peonidin-(acetyl)-hexosid	281, 519	505	MS ² [505]: 301 MS ³ : [505→301]: 286, 230
25	70,38	Malvidin-(acetyl)-hexosid	278, 350, 529	535	MS ² [535]: 331 MS ³ : [535→331]: 287, 299, 316, 269, 179

In *V. corymbosum* konnten 14 unterschiedliche Anthocyane gefunden werden. Bis auf das Fehlen von Peonidin-3-O-glucosid (Peak 11) ist ihr Anthocyanprofil identisch mit dem von *V. myrtillus*. Dies wird in der Studie von Müller et al. (2012) über diese beiden Beeren bestätigt.

In den hier untersuchten *V. angustifolium*-Beeren konnten insgesamt 25 Anthocyane zugeordnet werden. Neben den 15 Anthocyanen der Heidelbeere (Peak 1-15) kommen noch zehn acylierte Derivate vor sowie ein weiteres Petunidinpentosid, die im Chromatogramm zu einer späteren Retentionszeit erscheinen. Eine Acylierung des substituierten Zuckers führt zu einer geringeren Polarität und somit zu einer späteren Retentionszeit, was das chromatographische Verhalten von Peak 16 und 18-25 bestätigt. Alle acylierten Anthocyane der Blaubeere zeigen ein zusätzliches Molekulargewicht von 42 Da, wobei es sich um einen Acetylrest handelt. Weil sie einen Neutral Loss von 204 Da (Hexose + Acetylrest) zeigen und direkt auf das Aglykon fragmentieren, ist anzunehmen, dass die Säure am Zucker gebunden ist. Wu und Prior (2005) beschreiben eine Acetylierung in der 6“-Position des Zuckers, was diese Vermutung bestätigt.

Insgesamt identifizierten Wu und Prior (2005) in wilden Blaubeeren (*V. angustifolium*) zwischen 20-27 Anthocyane. Zusätzlich konnten sie auch mit Malonsäure verknüpfte Anthocyane finden, was in der vorliegenden Arbeit nicht der Fall war. In Studien von Kader et al. (1999) konnten auch ausschließlich acetylierte Anthocyane identifiziert werden. Dies könnte daran liegen das unterschiedliche Sorten untersucht wurden und die meisten nur acetylierte Derivate aufweisen (Gao & Mazza, 1994).

Die Andenheidelbeere fällt mit ihrem Anthocyanprofil im Vergleich zu den anderen Beeren ganz aus der Reihe. In 2009 wurde erstmals in der Studie von Vasco et al. die Anthocyane untersucht. Sie detektierten unterschiedliche Glykoside von Delphinidin und Cyanidin sowie die beiden freien Aglyka. In den hier durchgeführten Analysen wurden in *V. floribundum* neben den fünf beschriebenen Glykosiden zusätzlich das Delphinidin-3-O-glucosid (Peak 2) detektiert, jedoch keine der beiden Aglyka. Die Zuordnung der Anthocyane erfolgte hierbei durch den Vergleich mit der Heidelbeere sowie den authentischen Standards. Das Anthocyanmuster ähnelt dem der *V. meridionale*, der kolumbianischen Heidelbeere, und weniger den hier untersuchten Beeren. Der große Unterschied im Anthocyanmuster der Andenheidelbeere zu *V. angustifolium*, *V. corymbosum* und *V. myrtillus* ist neben anderen Faktoren vor allem durch variierende Bedingungen der Umwelt wie z.B. der Lichtintensität und der Nährstoffversorgung, begründet. Diese unterscheiden sich deutlich durch die besonderen Bedingungen der Anden von den Verbreitungsgebieten der anderen Beeren (Garzón et al., 2010). Hingegen sind die Wachstumsbedingungen von *V. floribundum* und *V. meridionale* vergleichbar.

Zwischen wilden Blaubeeren (*V. angustifolium*), Kulturblaubeeren (*V. corymbosum*) und Heidelbeeren bieten die Anthocyane eine gute Unterscheidungsmöglichkeit. Im Gegensatz zur Heidelbeere und zur kultivierten Blaubeere sind in der wilden Blaubeere auch einige acetylierte Anthocyane enthalten. Dies bestätigen ebenfalls frühere Studien (Gao & Mazza, 1994; Kader et al., 1996). *V. corymbosum* und *V. myrtillus* zei-

gen durch das Fehlen von Peonidin-3-O-glucosid ein unterschiedliches Anthocyanmuster und sind damit auch unterscheidbar. Gut differenzierbar sind die beiden Beeren auch durch die prozentuale Verteilung der individuellen Anthocyane. Sie wird im nächsten Kapitel diskutiert.

2.4.2.2 Anthocyankonzentrationen

Anthocyane tragen auch in Blau- und Heidelbeeren einen erheblichen Anteil zu den Flavonoiden bei (Prior et al., 1998). Heidelbeeren gelten unter den Beeren als eine der reichhaltigsten Anthocyanquellen (Müller et al., 2012). Die Angaben der Anthocyanengehalte in der Literatur variieren sehr stark. Dies ist auf Grund der genetischen Unterschiede zwischen kultivierten und wildwachsenden Beeren, den Umwelteinflüssen (z.B. Licht und Temperatur) sowie der Untersuchung unterschiedlicher Varietäten und Reifegrade zu erklären (Lätti et al., 2008; Jovančević et al., 2011). Tabelle 19 gibt einen Überblick über die in der Literatur gefundenen Gesamtgehalte. Beispielsweise sind für *V. myrtillus* Gesamtgehalte von 300 bis zu 1210 mg/ 100 g FG beschrieben (Prior et al., 1998; Može et al., 2011). Eine Studie von Müller et al. (2012) zeigt, dass diese Unterschiede nicht nur in den Sorten und Umwelteinflüssen begründet sind, sondern auch in der Analytik. Sie quantifizierten Anthocyane in Heidelbeeren mit 15 authentischen Standards. Zusätzlich haben sie die Gehalte als Cyanidinäquivalent berechnet und miteinander verglichen. Als Äquivalente in Blau-

Tabelle 19: Überblick über Gesamtanthocyanengehalte für Blaubeeren und Heidelbeeren in der Literatur

Quelle	Anthocyangesamtgehalt in mg/100 g FG			Analytik
	<i>V. corymbosum</i>	<i>V. angustifolium</i>	<i>V. myrtillus</i>	
Prior, Cao, et al. (1998)	93,1-235,4	95,4 ± 2,6	299,6 ± 12,9	Anthocyan-Assay, quantifiziert als Cya-3-glu
Kalt, McDonald, et al. (1999)	83-255	95-255	370	HPLC, quantifiziert als Mlv-3-O-glu
Može, et al. (2011)	212,4 ± 14,1		1210,3 ± 111,5	LC-MS, quantifiziert als Cya-3-O-glu
Müller et al. (2012)	232-438		933-1017	HPLC-UV, quantifiziert mit 15 authentischen Standards
Gao und Mazza (1994)	150-200	100		HPLC-UV, quantifiziert als Cya-3-O-glu
Wu, Beecher, et al. (2006)	386,6 ± 77,7	486,5		HPLC, quantifiziert mit sechs Anthocyan glycosiden
Koponen, et al. (2007)	218,5		611,3	HPLC-UV, quantifiziert als Cya-3-O-glu
Skrede et al. (2000)	99			Anthocyan-Assay, quantifiziert als Cya-3-O-glu
Lätti et al. (2008)			359-525	HPLC-UV, quantifiziert als Cya-3-O-glu

Cya-3-O-glu = Cyanidin-3-O-glucosid; Mlv-3-glu = Malvidin-3-O-glucosid

beeren waren die Gehalte etwa 45% und in Heidelbeeren etwa 35% geringer. Bei einem Vergleich von absoluten Gehalten sind folglich neben den Umwelteinflüssen auch die angewendete analytische Methode und die Verwendung von Standards entscheidende Faktoren.

Tabelle 20 (S. 95) zeigt die in dieser Arbeit ermittelten Gesamtanthocyangehalte. In *V. myrtillus* wurden Gehalte von 485,61-667,26 mg/ 100 g FG ermittelt. Im Vergleich zu *V. corymbosum* mit $125,64 \pm 5,02$ mg/ 100 g FG und *V. angustifolium* mit $200,27 \pm 1,73$ bzw. $134,22 \pm 2,32$ mg/ 100 g FG weisen Heidelbeeren eine deutlich höhere Anthocyankonzentration auf. Das zeigte auch bereits eine Studie von Prior et al. (1998). Dennoch kann dies auf Grund der genannten Einflüsse kein Bewertungskriterium zur Bestimmung der Authentizität sein, da zu viele Parameter (Sorte, Reifegrad, Analytik etc.) berücksichtigt werden müssen. Beim Vergleich der prozentualen Verteilung der individuellen Anthocyane spielen hingegen die absoluten Gehalte sowie Umwelteinflüsse keine Rolle. Des Weiteren hat die Quantifizierung über Äquivalente oder mit den jeweiligen authentischen Standards keinen Einfluss.

Abbildung 37 (S. 94) zeigt die absoluten Gehalte der unterschiedlichen Anthocyane sowie deren prozentuale Verteilung. Hierbei sind zwischen Heidelbeeren und den Blaubeeren Unterschiede zu finden. Jedoch ist innerhalb jeder Spezies die prozentuale Verteilung nahezu gleich. Der Vergleich der charakteristischen Anthocyanprofile hat sich bereits als eine Möglichkeit zur Authentizitätskontrolle von *V. myrtillus* herausgestellt (Primetta et al., 2013).

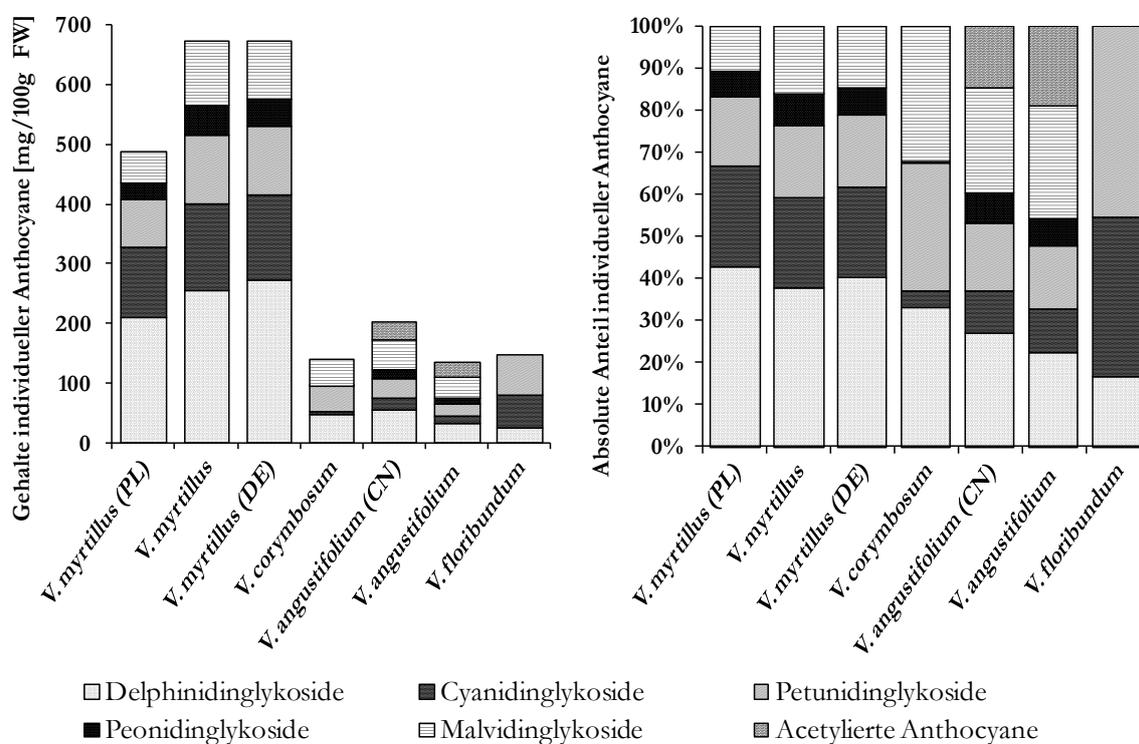


Abbildung 37: Absolutgehalte und prozentuale Anteile individueller Anthocyane am Gesamtgehalt von Blau- und Heidelbeeren

Tabelle 20: Gehalte der einzelnen Anthocyane und Gesamtanthocyangehalt von Blau- und Heidelbeeren unterschiedlichen Ursprungs

mg/100 g FG	<i>V. myrtillus</i>			<i>V. corymbosum</i>	<i>V. angustifolium</i>		<i>V. floribundum</i>
	PL	u. H.	DE		CN	u. H.	
Delphinidin-3-O-galactosid ^c	83,97 ± 5,13	101,99 ± 6,47	114,04 ± 2,88	29,20 ± 1,43	23,44 ± 0,09	12,58 ± 0,22	10,53 ± 2,24
Delphinidin-3-O-glucosid ^c	73,62 ± 4,18	92,35 ± 6,82	94,23 ± 2,21	0,38 ± 0,03	19,33 ± 0,17	11,36 ± 0,29	0,99 ± 0,01
Cyanidin-3-O-galactosid ^a	43,77 ± 2,08	51,41 ± 3,62	56,16 ± 1,53	3,22 ± 0,19	7,58 ± 0,02	5,23 ± 0,03	52,22 ± 4,66
Delphinidin-3-O-arabinosid ^c	52,27 ± 3,76	60,40 ± 4,70	62,52 ± 0,82	16,87 ± 0,74	11,57 ± 0,04	6,15 ± 0,13	12,70 ± 0,25
Cyanidin-3-O-glucosid ^a	45,02 ± 2,17	57,44 ± 3,91	54,18 ± 1,37	0,31 ± 0,00	7,83 ± 0,07	5,55 ± 0,14	3,39 ± 0,57
Petunidin-3-O-galactosid ^b	22,27 ± 1,36	29,97 ± 2,01	34,25 ± 0,92	14,04 ± 0,11	10,68 ± 0,05	5,79 ± 0,05	66,14 ± 3,06
Cyanidin-3-O-arabinosid ^a	27,96 ± 1,52	36,00 ± 2,81	33,62 ± 0,83	1,69 ± 0,02	4,74 ± 0,02	3,48 ± 0,05	
Petunidin-3-O-glucosid ^b	46,77 ± 3,07	67,85 ± 5,18	66,05 ± 1,53	0,09 ± 0,02	14,77 ± 0,13	10,05 ± 0,25	
Peonidin-3-O-galactosid ^b	4,55 ± 0,60	9,43 ± 0,67	8,60 ± 0,38	0,23 ± 0,05	3,51 ± 0,03	2,00 ± 0,18	
Petunidin-3-O-arabinosid ^b	11,14 ± 1,29	17,36 ± 1,43	15,67 ± 0,48	28,26 ± 1,22	6,91 ± 0,05	4,05 ± 0,26	
Peonidin-3-O-glucosid ^b	22,58 ± 1,77	37,77 ± 2,83	34,48 ± 1,09		6,17 ± 0,07	4,43 ± 0,23	
Malvidin-3-O-galactosid ^b	11,99 ± 1,52	25,87 ± 2,29	25,40 ± 0,85	30,82 ± 1,34	18,38 ± 0,14	12,38 ± 0,31	
Peonidin-3-O-arabinosid ^b	1,99 ± 0,65	3,62 ± 0,74	1,14 ± 0,47	<0,01	4,36 ± 0,15	2,14 ± 0,24	
Malvidin-3-O-glucosid ^b	37,74 ± 2,56	71,33 ± 5,54	66,91 ± 1,16	0,55 ± 0,03	22,31 ± 0,19	16,79 ± 0,50	
Malvidin-3-O-arabinosid ^b	3,45 ± 0,37	10,96 ± 1,33	7,18 ± 0,31	13,87 ± 0,61	9,57 ± 0,18	6,82 ± 0,21	
Cyanidin-(acetyl)-hexosid ^a					1,09 ± 0,11	0,79 ± 0,09	
Petunidinpentosid ^b					<0,01	<0,01	
Delphinidin-(acetyl)-hexosid ^c					4,34 ± 0,04	2,93 ± 0,12	
Petunidin-(acetyl)-hexosid ^b					1,09 ± 0,02	0,63 ± 0,02	
Peonidin-(acetyl)-hexosid ^b					2,68 ± 0,03	2,26 ± 0,08	
Cyanidin-(acetyl)-hexosid ^a					0,69 ± 0,03	0,65 ± 0,05	
Malvidin-(acetyl)-hexosid ^b					4,60 ± 0,07	3,45 ± 0,09	
Petunidin-(acetyl)-hexosid ^b					3,07 ± 0,04	2,46 ± 0,11	
Peonidin-(acetyl)-hexosid ^b					1,56 ± 0,04	1,66 ± 0,10	
Malvidin-(acetyl)-hexosid ^b					10,87 ± 0,13	11,08 ± 0,39	
Summe	485,61 ± 31,65	662,76 ± 48,74	667,26 ± 16,53	125,64 ± 5,02	200,27 ± 1,73	134,22 ± 2,32	145,23 ± 1,20

^aQuantifiziert als Cyanidin-3-O-glucosid; ^bquantifiziert als Peonidin-3-O-glucosid; ^cquantifiziert als Delphinidin-3-O-glucosid; n = 6; u. H. = unbekannte Herkunft

In der Studie von Vasco et al. (2009) wurden auch erstmals Informationen über die Anthocyangehalte der Andenheidelbeere veröffentlicht. Hier lag der Gesamtgehalt bei 345 mg Cyanidin/ 100 g FG. In der zweiten Studie von Schreckinger et al. (2010) wurde ein Gehalt von 10,6 mg/ g TM ermittelt, was in etwa 163 mg/ 100 g FG entspricht. In der vorliegenden Arbeit wurde der Anthocyangehalt mit $145,23 \pm 1,20$ mg/ 100 g FG bestimmt und ist demnach mit dem von Blaubeeren vergleichbar. Bislang sind das die einzigen Studien über die Anthocyane der Andenheidelbeere.

2.4.3 Flavonolprofile von Heidelbeeren und Blaubeeren

Abbildung 39 (S. 103) und Abbildung 40 (S. 104) zeigen die HPLC-Chromatogramme der unterschiedlichen *Vaccinium*-Spezies bei 360 nm und Tabelle 21 bis Tabelle 25 (S. 98-105) die dazugehörigen massenspektrometrischen Daten. Da die Beeren ein sehr komplexes Flavonolprofil aufweisen, wird aus Gründen der Übersichtlichkeit das Profil der Andenheidelbeere separat betrachtet.

Blau- und Heidelbeeren

In Heidelbeeren und Blaubeeren wurden insgesamt 53 unterschiedliche Verbindungen detektiert. Darunter treten im Chromatogramm andere Verbindungsklassen wie z.B. Phenolcarbonsäuren, Iridoide und Cinchonain Isomere auf (Peak 1, 10, 14, 28, 37, 39 und 43). Die Vorgehensweise zur Zuordnung dieser Peaks ist bereits in anderen Kapiteln beschrieben worden.

Von den 53 Verbindungen konnten der *V. myrtillus* 41, der *V. angustifolium* 42 und der *V. corymbosum* 33 zugeordnet werden. Dabei handelt es sich vorwiegend um Quercetinderivate, welche bereits in Blaubeersorten als die Flavonole mit dem höchsten Anteil beschrieben worden sind (Vrhovsek et al., 2011). Weiterhin sind dort auch Myricetin-, Laricitrin-, Kämpferol-, Isorhamnetin- und Syringetinderivate erwähnt. Bei der Zuordnung der Peaks wurde auf die gleiche Weise vorgegangen, wie bei Cranberrys, Moosbeeren und Preiselbeeren (s. Abschnitt 2.3.3, S. 70 ff.).

Insgesamt konnten 14 Quercetinderivate (Peak 8, 13, 15, 16, 17, 19, 22, 24, 25, 26, 30, 33, 49, 51, 52) zugeordnet werden (s. Tabelle 21, S. 98). Mittels authentischem Standard wurde Peak 51 als Quercetinaglykon identifiziert. Bei Peak 8 und 33 handelt es sich vermutlich um Diglykoside. Beide Komponenten zerfallen direkt auf das Aglykon, weshalb davon ausgegangen werden kann, dass die beiden Zucker als ein Disaccharid (Neutral Loss 294 Da bzw. 278 Da) am Quercetin gebunden sind. Peak 8 kann folglich als ein Quercetinhexosidpentosid und Peak 33 ein Quercetinpentosid-desoxyhexosid beschrieben werden. Peak 15 konnte mittels authentischem Standard als Rutin identifiziert werden. Genau wie die beiden anderen Diglykoside fragmentiert es direkt auf das Aglykon. Rutin wurde nur in den beiden Blaubeeren identifiziert, jedoch nicht in *V. myrtillus* (PL, DE). Da Rutin, das Quercetinglucuronid (Peak 16) und das Quercetinglucosid (Peak 17) coeluierten, kann erst beim Vergleich der Massenspuren deutlich erkannt werden, dass Rutin nur in Heidelbeeren nicht enthalten ist (s. Abbildung 38, S. 97).

Auch in anderen Studien konnte Rutin nur in Blaubeeren, jedoch nicht in Heidelbeeren detektiert werden (Laaksonen et al., 2010; Mikulic-Petkovsek et al., 2012; Koponen et al., 2008). Lediglich die Studie von Može, et al. (2011) über slowenische Heidelbeeren zeigt gegensätzliche Ergebnisse. In diesen Untersuchungen wurde sowohl in Heidelbeeren als auch in Blaubeeren Rutin identifiziert. Laut Može et al. (2011) ist in ihrer Studie zum ersten Mal Rutin in Heidelbeeren identifiziert worden. Es wurden Gehalte von bis zu 0,4 mg/ 100 g FG beschrieben, wobei die der Blaubeeren 16-mal so hoch sind.

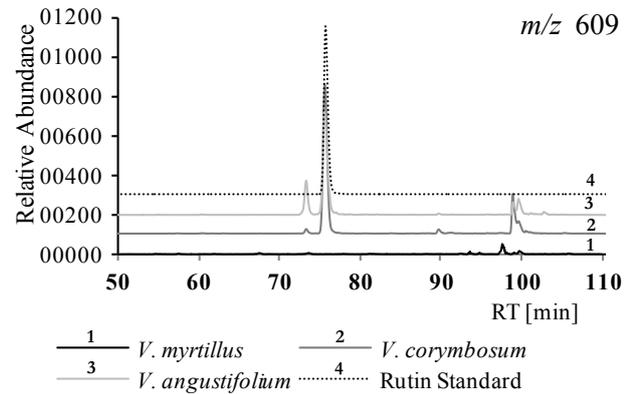


Abbildung 38: Vergleich der Massenspur m/z 609 von Blaubeeren und Heidelbeeren mit der eines Rutin-Standards

Peak 52 zeigt ebenfalls wie Rutin Mutterionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 609$ und konnte analog zu Cranberry als Quercetin-(cumaroyl)-hexosid beschrieben werden.

Quercetinglucuronid (Peak 16) konnte als das Hauptflavonol in Heidelbeeren zugeordnet werden und wurde auch in wilden Blaubeeren detektiert. In *V. corymbosum* konnte es jedoch nicht gefunden werden und bietet somit ein Unterscheidungsmerkmal der beiden Blaubeeren.

Die Zuordnung anhand des Neutral Loss lässt vermuten, dass es sich bei Peak 13 und 17 um Quercetinhexoside handeln könnte, wobei Peak 17 mittels Standard als Glucosid identifiziert wurde. Beim Vergleich mit Cranberrys, deren Hauptflavonol das Quercetingalactosid ist, kann für Peak 13 angenommen werden, dass es sich ebenfalls um das Galactosid handelt. Beide Flavonole sind bereits für Heidelbeeren in der Literatur beschrieben (Joadjur & Winterhalter, 2012). Peak 19, 22, 26 sind vermutlich Pentoside und Peak 30 ein Desoxyhexosid. In *V. corymbosum* wurden alle drei Quercetinpentoside gefunden und das Quercetindesoxyhexosid ist in den hier untersuchten Kulturblaubeeren das Hauptflavonol. Laut Literatur kann die prozentuale Zusammensetzung der Flavonolglykoside zwischen den unterschiedlichen Sorten schwanken, dennoch ist Quercetingalactosid stets die Hauptverbindung (Vrhovsek et al., 2011).

In beiden Blaubeeren wurden Peak 24 und 25 und nur in wilden Blaubeeren Peak 48 und 50 mit Mutterionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 549$ detektiert. Die Mutterionen von Peak 24 und 25 haben Tochterionen mit $m/z = 505$, 463 und 445, die wiederum auf das Aglykon Quercetin fragmentieren. Das Fragment $m/z = 505$ entsteht wahrscheinlich durch Decarboxylierung (-44 Da) des Mutterions. Durch einen Neutral Loss von 86 Da resultiert daraus das Fragment mit $m/z = 463$ (Quercetinhexosid). Es kann sich dabei um einen Malonylrest ($[Malonsäure-H_2O]$) handeln. Da auch Ionen des Quercetinhexosids auftreten, kann davon ausgegangen werden, dass die Malonsäure

am Zucker gebunden ist und es sich um Quercetin-(malonyl)-hexosid handelt. Quercetin-(6''-malonyl)-hexosid wird bereits mit analoger Fragmentierung in Kulturblaubereen in der Studie von Mikulic-Petkovsek et al. (2012) erwähnt. Die beiden anderen Peaks fragmentieren auf das Syringetinaglykon mit Ionen mit $m/z = 344$. Slimestad (2003) beschreibt unterschiedliche acetylierte Derivate von Flavonolen in Nadelblättern, unter anderem ein Syringetin-(acetyl)-glycosid mit Ionen bei $m/z = 549$. Es fragmentiert ebenfalls auf das Aglykon Syringetin. Peak 48 und 50 können analog zu Slimestad (2003) als Syringetin-(acetyl)-hexosid beschrieben werden.

Tabelle 21: Quercetinverbindungen in Heidelbeeren und Blaubeeren. Die Numerierung der Peaks bezieht sich auf Abbildung 39 (S. 103)

Peak nr.	Verbindung (λ_{\max})	MS	Fragmente	Vaccinium Spezies		
				<i>myrtillus</i>	<i>angustifolium</i>	<i>corymbosum</i>
8	Quercetin-hexosidpentosid (226,356)	595	MS ² [595]: 300, 301, 463 MS ³ : [595–300]: 271, 255, 272	X		
13	Quercetin-galactosid (227, 257, 354)	463	MS ² [463]: 301 MS ³ : [463–301]: 179, 151, 271, 255, 193, 107	X	X	X
15	Rutin (231, 355)	609	MS ² [609]: 301, 300 MS ³ : [609–301]: 165, 191, 147		X	X
16	Quercetin-glucuronid (227, 257, 354)	477	MS ² [477]: 301 MS ³ : [477–301]: 179, 151, 273, 257, 193	X	X	
17	Quercetin-3-O-glucosid (255, 355)	463	MS ² [463]: 301 MS ³ : [463–301]: 179, 151, 271, 257, 107	X	X	X
19	Quercetinpentosid (257, 353)	433	MS ² [433]: 301 MS ³ : [479–301]: 271, 179, 255, 151			X
22	Quercetinpentosid (226, 257, 353)	433	MS ² [433]: 301 MS ³ : [479–301]: 271, 179, 255, 151	X	X	X
24	Quercetin-malonylpentosid (221, 259, 354)	549	MS ² [549]: 505 MS ³ : [549–505]: 301, 463, 445		X	X
25	Quercetin-malonylpentosid (259, 354)	549	MS ² [549]: 505 MS ³ : [549–505]: 301, 463, 445		X	X
26	Quercetinpentosid (226, 259, 359)	433	MS ² [433]: 301 MS ³ : [439–301]: 179, 151, 271, 255	X	X	X
30	Quercetindesoxyhexosid (246, 355)	447	MS ² [447]: 316, 317 MS ³ : [447–301]: 179, 271, 255, 151	X	X	X
33	Quercetinpentosiddesoxyhexosid (227, 264, 347)	579	MS ² [579]: 300, 301, 429, 475 MS ³ : [579–300]: 271, 255, 243, 151	X	X	
49	Quercetin-(HMG)-desoxyhexosid (229, 255, 314)	591	MS ² [591]: 447, 489, 529 MS ³ : [591–447]: 301, 300	X		
51	Quercetin (257, 369)	301	MS ² [301]: 179, 151, 273, 257 MS ³ : [301–179]: 151, 169, 183	X	X	X
52	Quercetin-(cumaroyl)-galactosid (226, 303, 357)	609	MS ² [609]: 463, 301 MS ³ : [609–463]: 301, 300	X	X	X

HMG = Hydroxymethylglutaryl

Flavonolglykoside, die mit unterschiedlichen Säuren verknüpft sind, wurden bereits in Kulturblaubeeren identifiziert, insbesondere acetylierte Derivate (Borges et al., 2010; Cho et al., 2005; Mikulic-Petkovsek et al., 2012). In Heidelbeeren wurden bislang keine dieser Konjugate beschrieben und *V. angustifolium* wurde in keiner der Studien untersucht.

In allen Beeren konnten anhand der Fragmente mit $m/z = 345/344$ (Syringetin-aglykon) noch weitere Syringetinderivate (Peak 35, 36, 38, 41, 46 und 47) zugeordnet werden (s. Tabelle 22, S. 99). Es wurde ein Hexosid (Peak 36) in allen drei Beeren und ein weiteres Hexosid (Peak 35) in den wilden Blaubeeren detektiert. Ebenfalls wiesen alle drei Spezies ein Pentosid (Peak 41) und ein Desoxyhexosid (Peak 46) auf. Ein Glucuronid (Peak 38) zeigte sich nur in *V. myrtillus* und *V. angustifolium* und ein Pentosid (Peak 47) ist nur in Heidelbeeren nicht zu finden.

Tabelle 22: Laricitrin- und Syringetinverbindungen in Heidelbeeren und Blaubeeren. Die Numerierung der Peaks bezieht sich auf Abbildung 39 (S. 103)

Peak nr.	Verbindung (λ_{\max})	MS	Fragmente	Vaccinium Spezies		
				<i>myrtillus</i>	<i>angustifolium</i>	<i>corymbosum</i>
18	Laricitrinhexosid (226, 253, 359)	493	MS ² [493]: 331 MS ³ : [493–331]: 316, 315, 179, 287, 151	X	X	
20	Laricitrinhexosid (227, 256, 357)	493	MS ² [493]: 331 MS ³ : [479–331]: 316, 315, 179, 287, 151	X	X	X
21	Laricitrin-glucuronid (254, 358)	507	MS ² [507]: 331 MS ³ : [507–331]: 316, 179, 151, 135	X	X	
28	Laricitrinpentosid (226, 262, 364)	463	MS ² [463]: 330, 301 MS ³ : [463–330]: 315, 301		X	
35	Syringetinhexosid (226, 254, 357)	507	MS ² [507]: 344 MS ³ : [507–344]: 330, 331, 301, 315, 273		X	
36	Syringetinhexosid (226, 254, 357)	507	MS ² [507]: 344 MS ³ : [507–344]: 330, 331, 301, 315, 273	X	X	X
38	Syringetin-glucuronid (227, 255, 359)	521	MS ² [521]: 345, 331 MS ³ : [521–345]: 330, 315	X	X	
41	Syringetin-pentosid (226, 303, 357)	477	MS ² [477]: 344, 345 MS ³ : [477–344]: 301, 315, 273, 330	X	X	X
46	Syringetin-desoxyhexosid (257, 351)	491	MS ² [491]: 345, 329 MS ³ : [491–345]: 330, 315, 301, 273, 241	X		X
47	Syringetin-pentosid (228, 261, 361)	477	MS ² [477]: 344, 345 MS ³ : [477–344]: 301, 315, 273, 330		X	X
48	Syringetin-(acetyl)-hexosid (227, 256, 359)	549	MS ² [549]: 344, 386, 329 MS ³ : [549–344]: 316, 301, 273, 329		X	
50	Syringetin-(acetyl)-hexosid (227, 256, 359)	549	MS ² [549]: 344, 386, 329 MS ³ : [549–344]: 316, 301, 273, 329		X	

Bei Peak 18, 20, 21, und 28 handelt es sich vermutlich um Laricitrinderivate (s. Tabelle 22, S. 99). Sie zeigen jeweils das Aglykon $m/z = 331$ als Fragment. Der Neutral Loss deutet darauf hin, dass Peak 18 und 20 Hexoside, Peak 28 ein Pentosid und Peak 21 ein Glucuronid sind. Peak 58 konnte als das Aglykon Laricitrin zugeordnet werden, das nur in der Heidelbeere vorkommt.

Laricitrin und Syringetin gehören zu den weniger häufig vorkommenden Flavonolen, wurden aber bereits in *Vaccinium myrtillus* und *Vaccinium uliginosum* (Rauschbeeren, ähnlich den Blaubeeren) identifiziert (Koponen et al., 2007; Lätti et al., 2010). Laut Literatur wurden in *V. corymbosum* Syringetin- und Laricitrin-konjugate erstmals durch Vrhovsek et al. (2011) beschrieben. Über das Vorkommen in wilden Blaubeeren gibt es bislang keine Informationen.

Peak 2, 3, 4, 5, 11 und 12 konnten als Myricetinglykoside zugeordnet werden (s. Tabelle 23, S. 100). Sie fragmentieren im MS² auf das Aglykon Myricetin ($m/z = 317$). Anhand des Neutral Losses von 162 Da, 132 Da, 146 Da und 176 Da können Peak 2 und 4 als Hexoside, Peak 5 und 11 als Pentoside, Peak 12 als Desoxyhexosid und Peak 3 als Glucuronid zugeordnet werden. Peak 12 wurde mittels authentischem Standard als Myricetin-3-O-rhamnosid identifiziert. Diese Myricetinderivate sind bereits in der Heidelbeere identifiziert worden (Laaksonen, Sandell, & Kallio, 2010). In den beiden Blaubeeren sind nicht alle zugeordneten Myricetinglykoside enthalten. In *V. corymbosum* fehlt das Glucuronid und in *V. angustifolium* ein Pentosid.

Tabelle 23: Detektierte Myricetinverbindungen in Heidelbeeren und Blaubeeren. Die Numerierung der Peaks bezieht sich auf Abbildung 39 (S. 103)

Peak nr.	Verbindung (λ_{\max})	MS	Fragmente	Vaccinium Spezies		
				myrtillus	angustifolium	corymbosum
2	Myricetinhexosid (227, 261, 356)	479	MS ² [479]: 316, 317, 299 MS ³ : [479→317]: 271, 179, 287, 231, 151, 137	X	X	X
3	Myricetin-glucuronid (225, 263, 362)	493	MS ² [493]: 317 MS ³ : [493→317]: 179, 151, 191, 137	X	X	
4	Myricetinhexosid (227, 263, 359)	479	MS ² [479]: 316, 317 MS ³ : [479→316]: 271, 287, 179, 241, 151	X	X	X
5	Myricetinpentosid (226, 262, 358)	449	MS ² [449]: 316, 317 MS ³ : [479→317]: 179, 151, 193, 271, 137	X		X
11	Myricetinpentosid (226, 268, 366)	449	MS ² [449]: 316, 317 MS ³ : [449→316]: 271, 287, 242, 179	X	X	X
12	Myricetin-3-O-rhamnosid (263, 358)	463	MS ² [463]: 316, 317 MS ³ : [463→316]: 271, 287, 242, 179, 316	X	X	X

Peak 31, 32, 34, 40, 44 und 45 konnten anhand ihrer Tochterionen $m/z = 315/314$ als Isorhamnetinderivate eingeordnet werden (s. Tabelle 24, S. 101). Es wurden zwei Hexoside (Peak 31 und 34), zwei Pentoside (Peak 40 und 44) und ein Desoxyhexosid (Peak 45) detektiert. Peak 32 zeigt Mutterionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 623$, die auf das Molekülion Isorhamnetin mit $m/z = 315$ fragmentieren. Der Neutral Loss beträgt 308

Da, woraus geschlossen werden kann, dass es sich wahrscheinlich um ein Desoxyhexosid-hexosid handelt.

Nur in den beiden Blaubeeren konnten anhand des Fragments $m/z = 285$ (Kämpferolglykons) die beiden Peaks 23 und 42 als Kämpferolderivate eingeordnet werden.

Peak 6, 7 und 9 konnten nicht eindeutig zugeordnet werden. Anhand ihrer Absorptionsmaxima (355, 358 und 355 nm) kann vermutet werden, dass es sich um Flavonole handelt. Alle drei Peaks zeigen Tochterionen mit $m/z = 329$, welche die gleichen Fragmente ($m/z = 314$ und 299) wie ein Quercetindimethylether aufweisen (Falcão et al., 2012). Anhand ihres Neutral Losses ist jedoch keine weitere Zuordnung möglich. Daher werden die Peaks als Derivate des Quercetindimethylethers beschrieben. Da das Vorkommen des Quercetinmethylethers Isorhamnetin bereits in Blaubeeren und Heidelbeeren beschrieben ist, wäre auch ein Dimethylether denkbar (Vrhovsek et al., 2011). In allen drei untersuchten Beeren konnte ein solches Derivat detektiert werden.

Tabelle 24: Kämpferol- und Isorhamnetinverbindungen sowie weitere Derivate in Heidelbeeren und Blaubeeren. Die Numerierung der Peaks bezieht sich auf Abbildung 39 (S. 103)

Peak nr.	Verbindung (λ_{\max})	MS	Fragmente	Vaccinium Spezies		
				<i>myrtillos</i>	<i>angustifolium</i>	<i>corymbosum</i>
6	Quercetindimethyletherderivat (228, 355)	509	MS ² [509]: 329, 347, 355 MS ³ : [493–329]: 314, 329, 149	X	X	X
7	Quercetindimethyletherderivat (228, 358)	509	MS ² [509]: 329, 347, 355, 193 MS ³ : [509–329]: 314, 299, 145, 167, 139	X	X	
9	Quercetindimethyletherderivat (226, 355)	479	MS ² [479]: 329, 325, 299, 347, 461, 149 MS ³ : [479–329]: 314, 149, 299, 197	X	X	X
23	Kämpferolhexosid (226, 265, 354)	447	MS ² [447]: 284, 285, 255 MS ³ : [447–284]: 255, 227		X	
31	Isorhamnetinhexosid (228, 355)	477	MS ² [477]: 314, 315, 301, 271 MS ³ : [477–315]: 300, 287, 244	X	X	X
32	Isorhamnetinrutinosid (227, 256, 354)	623	MS ² [623]: 315, 300 MS ³ : [623–315]: 300, 272, 244, 163		X	
34	Isorhamnetinhexosid (254, 355)	477	MS ² [477]: 314, MS ³ : [477–300]: 271, 255, 243, 151	X	X	X
40	Isorhamnetinpentosid (228, 361)	447	MS ² [447]: 314, 315, 285 MS ³ : [447–314]: 285, 271, 243, 300			X
42	Kämpferolpentosid (220, 246, 344)	431	MS ² [431]: 285 MS ³ : [431–285]: 257, 267, 229, 213, 163			X
44	Isorhamnetinpentosid (255, 351)	447	MS ² [447]: 315, 314, 285 MS ³ : [447–315]: 300, 285, 271, 243			X
45	Isorhamnetin-desoxyhexosid (228, 255, 348)	461	MS ² [461]: 314, 315, 285 MS ³ : [461–314]: 285, 271, 243, 299			X

Fazit

Insgesamt zeigen die Flavonolprofile der Blau- und Heidelbeeren zahlreiche Parallelen. Die größten Unterschiede scheinen in der Verteilung der individuellen Flavonole zu liegen. Verhältnisse können jedoch auf Grund der vielen Coelutionen nicht gebildet werden, da dass eine Basislinientrennung der einzelnen Verbindungen erfordert. Als einzige Möglichkeit bleibt folglich die An- oder Abwesenheit einzelner Verbindungen. Hierbei könnte Rutin eine mögliche Unterscheidung darstellen. Zu diesem Zweck müsste allerdings dieser Unterschied noch in weiteren Studien bestätigt werden, da bisher durchgeführte Untersuchungen gegensätzlich Ergebnisse gezeigt haben. Eine weitere Chance zur Differenzierung von Blaubeeren zu Heidelbeeren stellen Peak 24 und 25 (Quercetin-(malonyl)-hexoside) dar. Das Fehlen von Quercetinglucuronid in *V. corymbosum*, im Gegensatz zu *V. angustifolium*, stellt ebenfalls eine Unterscheidungsmöglichkeit dar, jedoch müssen zur Bestätigung weitere Sorten untersucht werden, da Variationen bei den individuellen Flavonolen auftreten können. Dies wurde in einer Studie von Vrhovsek et al. (2011) demonstriert. In der Untersuchung wiesen verschiedene Sorten von Kulturblaubeeren variable prozentuale Anteile an den sechs unterschiedlichen Flavonolagylka sowie sechs Glykosiden auf. Einheitlich wurde in allen der Genotypen Quercetin als das am häufigsten vorkommende Flavonol bestimmt, was sich auch in diesen Untersuchungen bestätigte.

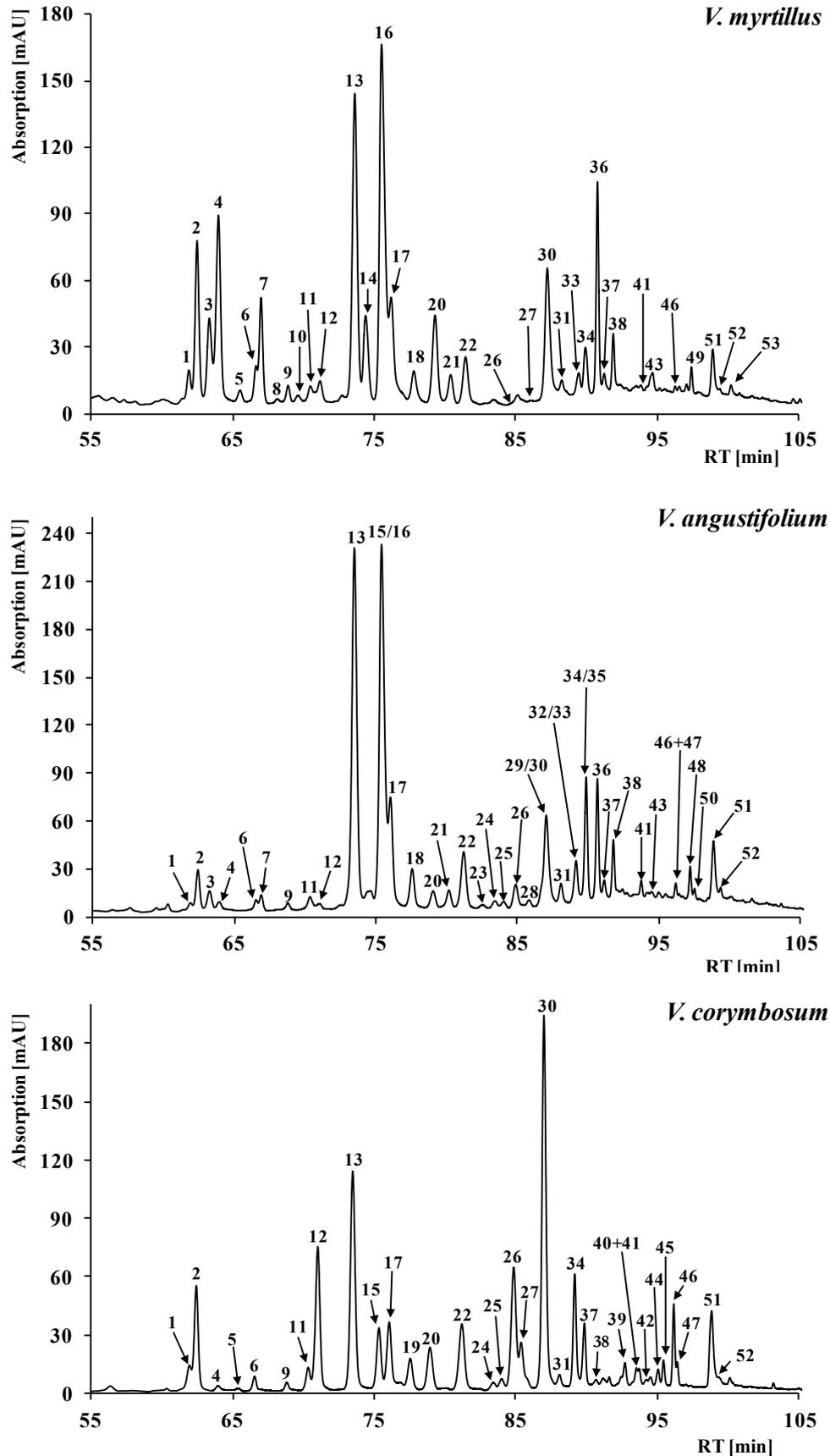


Abbildung 39: HPLC-Chromatogramme bei 360 nm der Methanolextrakte von Heidelbeeren, wilden Blaubeeren und Kulturblaubeeren. Die Peaknumerierung bezieht sich auf Tabelle 21-24 (S. 98-101)

Andenheidelbeere

Abbildung 40 zeigt ein Chromatogramm von *V. floribundum*. Mittels authentischen Standards konnten Quercetin (Peak 14) und Quercetin-3-O-glucosid (Peak 2) identifiziert werden. Bei dem zweiten Hexosid (Peak 1) handelt es sich nach Vergleich mit den Daten der anderen *Vaccinium*-Spezies wahrscheinlich um das Quercetingalactosid. Es ist im Profil als der größte Peak zu erkennen. Insgesamt wurden vier Pentosiden (Peak 4, 5, 7 und 8) und ein Desoxyhexosid (Peak 9) detektiert. Zusätzlich konnte Peak 3 mit Mutterionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 595$ als ein Quercetinhexosidpentosid zugeordnet werden.

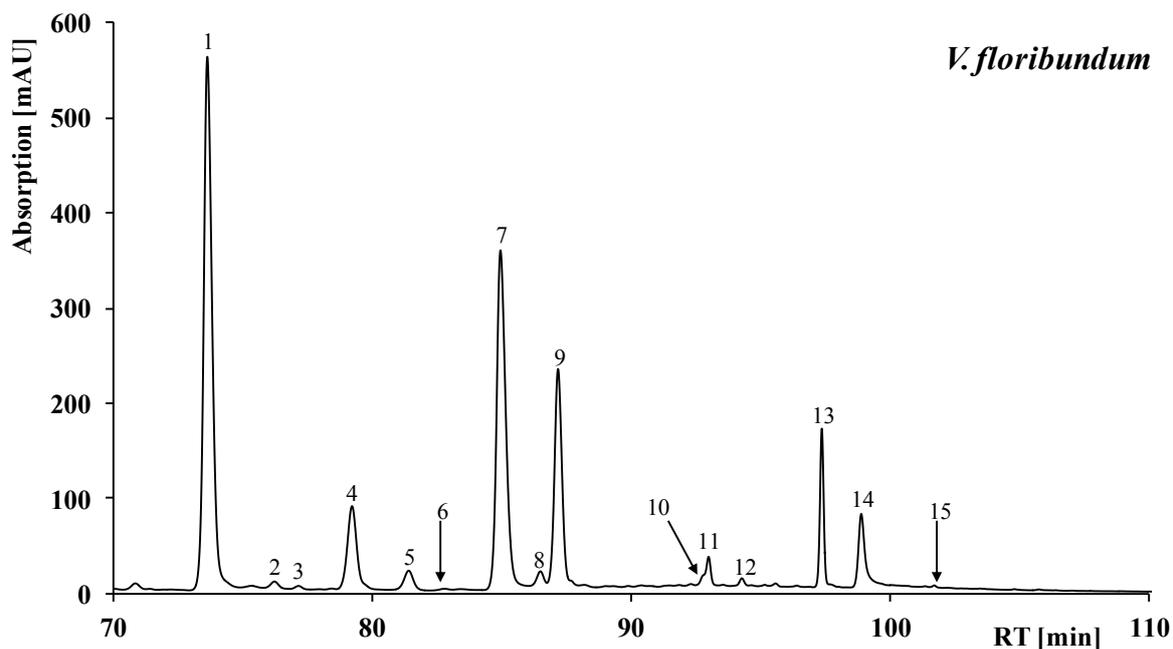


Abbildung 40: HPLC-Chromatogramm bei 360 nm eines Methanolextrakte von Andenheidelbeeren. Die Numerierung der Peaks bezieht sich auf Tabelle 25 (S. 105)

Peak 13 zeigt Mutterionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 591$ und Fragmente $m/z = 447, 489, 529$ und 301 . Vasco et al. (2009) beschreiben ein Quercetinderivat mit Molekülonen $[M+H]^+$ mit $m/z = 593$, mit analoger Fragmentierung zu Peak 13, jedoch im positiven Ionisierungsmodus. Eine Verbindung mit diesem Fragmentierungsmuster bei negativer Ionisierung konnte bereits in Preiselbeeren als Quercetin-(hydroxymethylglurayl)-rhamnosid identifiziert werden (Ek, Kartimo, Matilla, & Tollonen, 2006). Das bestätigt auch der Vergleich mit den hier untersuchten Preiselbeeren. Peak 13 kann folglich als ein Quercetin-(hydroxymethylglurayl)-rhamnosid beschrieben werden.

Peak 11 weist Ionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 577$ und Fragmenten $m/z = 433, 475, 301$ und 515 auf, wobei der Neutral Loss wie bei Peak 13 ebenfalls 144 Da beträgt, was der Masse eines Hydroxymethylglutaryl-Rests entspricht. Der Peak kann folglich als ein Quercetin-(hydroxymethylglutaryl)-pentosid beschrieben werden.

Tabelle 25: Massenspektrometrische Daten der in Andenheidelbeeren detektierten Verbindungen. Die Peaknumerierung bezieht sich auf Abbildung 40 (S. 104)

Peak Nr.	RT [min]	Verbindung	λ_{\max}	[M-H] ⁻	Fragmente
1	72,53	Quercetingalactosid	223, 256, 354	463	MS ² [463]: 301 MS ³ : [463–301]: 179, 151, 193, 257
2	76,15	Quercetinglucosid	227, 257, 354	463	MS ² [463]: 301 MS ³ : [463–301]: 179, 151, 193, 257
3	76,08	Quercetinhexosid-pentosid	227, 266, 344	595	MS ² [595]: 463, 433 MS ³ : [595–463]: 301
4	79,15	Quercetinpentosid	226, 256, 352	433	MS ² [433]: 301 MS ³ : [433–301]: 179, 151, 193, 257
5	81,35	Quercetinpentosid	227, 256, 355	433	MS ² [433]: 301 MS ³ : [433–301]: 179, 151, 193, 257
6	82,74	Kämpferolhexosid	226, 267, 353	447	MS ² [447]: 284, 285 MS ³ : [447–285]: 257, 267, 197, 189
7	84,90	Quercetinpentosid	229, 257, 352	433	MS ² [433]: 301 MS ³ : [433–301]: 179, 151, 193, 257
8	86,45	Quercetinpentosid	225, 258, 351	433	MS ² [433]: 301 MS ³ : [433–301]: 179, 151, 193, 257
9	85,85	Quercetin-desoxyhexosid	229, 257, 348	447	MS ² [447]: 301 MS ³ : [447–301]: 179, 151, 193, 257
10	92,81	Kämpferolpentosid	227, 257, 353	417	MS ² [417]: 285 MS ³ : [417–285]: 257, 229, 213, 197, 163
11	92,96	Quercetin-(HMG)-pentosid	227, 257, 353	577	MS ² [577]: 433, 475, 301, 515 MS ³ : [577–433]: 301
12	94,24	Kämpferol-desoxyhexosid	260, 352	431	MS ² [431]: 285 MS ³ : [431–285]: 257, 229, 213, 197, 163
13	97,34	Quercetin-(HMG)-rhamnosid	228, 257, 349	591	MS ² [591]: 447, 489, 529, 301 MS ³ : [591–447]: 301
14	98,86	Quercetin	228, 255, 369	301	MS ² [301]: 179, 151, 273, 193 MS ³ : [301–179]: 151, 107
15	101,72	Kämpferol-(HMG)-rhamnosid	221, 264, 343	575	MS ² [575]: 431, 473, 513, 285 MS ³ : [575–431]: 285

HMG = Hydroxymethylglutaryl

Kämpferole (Peak 6, 10, 12 und 15) treten im Chromatogramm als Minorkomponenten auf. Begründet durch den Neutral Loss, konnten diese als ein Hexosid (Peak 6), ein Pentosid (Peak 10), ein Desoxyhexosid (Peak 12) und ein Kämpferol-(hydroxymethylglutaryl)-desoxyhexosid benannt werden. Es wurden keine Myricetine gefunden.

Die Andenheidelbeere weist im Vergleich zu den Heidel- und Blaubeeren ein anderes Profil auf, wobei auch die Anzahl der Flavonole wesentlich geringer ist. Hingegen zeigen die Flavonolprofile der europäischen Heidelbeere und der wilden Blaubeere miteinander große Ähnlichkeiten, obwohl sie auch verschiedenen Subgenera angehören. Als ein entscheidender Einflussfaktor auf die Profile könnte folglich auch hier der Standort sein. In den Anden herrschen durch die Hochlage besondere Umweltbedingungen, die weder in Nordamerika noch Europa so vorzufinden sind. Das

Flavonolmuster der Andenheidelbeere gleicht mehr dem der *Vaccinium meridionale Swartz*, einer Blaubeere, welche in den kolumbianischen Anden und somit unter ähnlichen Umweltbedingungen wächst (Garzón et al., 2010).

Interessanterweise konnte auch festgestellt werden, dass das Flavonolprofil der Andenheidelbeeren dem der Preiselbeeren ähnelt. Beide Beeren weisen sowohl Quercetine und Kämpferole, aber keine Myricetine auf.

Vasco et al. (2009) haben in ihrer Studie zwei Myricetinpentoside, sechs Quercetinglykoside, ein Quercetinderivat sowie das Aglykon Quercetin detektiert. Angaben zu den verknüpften Zuckern gibt es jedoch keine.

In der vorliegenden Arbeit konnten fünf weitere Flavonole detektiert werden, wobei keine Myricetinverbindungen, jedoch Kämpferole detektiert wurden. Des Weiteren konnten einige der Quercetinverbindungen genauer beschrieben werden.

2.4.4 Profile der Phenolcarbonsäuren und Cumaroyliridoidglykoside von Heidelbeeren und Blaubeeren

Phenolcarbonsäuren:

Blaubeeren enthalten 85 mg/ 100 g (FG) und Heidelbeeren 40-51 mg/ 100 g (FG) (Mattila et al., 2006). Insbesondere in Blaubeeren (*V. corymbosum*) tragen phenolische Säuren einen hohen Anteil zu den phenolischen Verbindungen bei (Taruscio et al., 2004). Das ist auf ihren hohen Gehalt an Chlorogensäuren (0,5-2 g/ kg) zurückzuführen. Sie weisen aber auch geringe Mengen (ca. 0,06 mg/ kg) an anderen Konjugaten (vorwiegend Glykoside) auf (Clifford, 1999).

Abbildung 42 (S. 110) zeigt die HPLC-Chromatogramme der Beeren-Extrakte bei 310 nm. In Tabelle 26 (S. 111) befinden sich die dazugehörigen massenspektrometrischen Daten. Insgesamt wurden 31 unterschiedliche Derivate phenolischer Säuren zugeordnet. In *V. corymbosum* konnten mit 21 die meisten Peaks detektiert werden. In *V. angustifolium* wurden 10, in *V. myrtillus* 14 und in *V. floribundum* 19 Verbindungen zugeordnet.

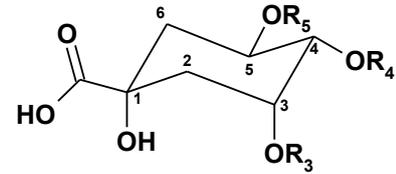
Aus wie bereits im Abschnitt zur Cranberry, Moosbeere und Preiselbeere genannten Gründen der Unübersichtlichkeit im Chromatogramm durch die Vielzahl an Verbindungen, wird zur Detektion der Hydroxybenzoesäuren ebenfalls kein Chromatogramm bei 280 nm gezeigt.

Hydroxybenzoesäuren

Peak 1 konnte mittels authentischem Standard als Protocatechusäure identifiziert werden. Peak 2 und 3 sind vermutlich Glykoside der Säure. Als weiterer Vertreter unter den Hydroxybenzoesäuren konnte mit Peak 26 ein Vanillinsäurederivat vermutet werden, weil sein UV-Spektrum dem der Protocatechusäure ähnlich ist. Die Molekülonen $[M-H]^-$ mit $m/z = 333$ zeigen ein Fragment $m/z = 167$, welches decarboxyliert ($m/z = 123$). Es könnte sich folglich um ein Vanillinsäureanion handeln. Der Neutral Loss von 166 Da kann jedoch nicht zugeordnet werden.

Hydroxyzimtsäuren

Die Peaks 5, 16, 17 und 19 können als Chlorogensäure-Isomere (CQA) beschrieben werden. Mittels eines authentischen Standards konnte Peak 16 als 5-CQA identifiziert werden und ist in allen Beeren die Hauptverbindung unter den Derivaten der phenolischen Säuren. Die anderen Peaks zeigen jeweils ein identisches UV-Maximum bei 325 nm und eine für CQA typische Fragmentierung im MS. Die verschiedenen Stellungsisomere der Kaffeoylchinasäure (s. Abbildung 41) können über



3-CQA: R3 = Kaffesäure; R4 = R5 = H

4-CQA: R4 = Kaffesäure; R3 = R5 = H

5-CQA: R5 = Kaffesäure; R3 = R4 = H

Abbildung 41: Isomere der Kaffeoylchinasäure

Detektion konnte festgestellt werden, dass die relative Intensität der Fragmente von der Position der Esterbindung der Chinasäure mit der Kaffeesäure abhängt. Zeigt die Chlorogensäure ein Hauptfragment mit $m/z = 191$ ($[M-H\text{-kaffeoyl}]^-$), kann daraus geschlossen werden, dass eine 3-OH- oder eine 5-OH-Verknüpfung der Kaffeesäure vorliegt. Anhand der relativen Intensität des Peaks mit $m/z = 179$ ($[M-H\text{-Chinasäure}]^-$) kann dann zwischen 3-CQA und 5-CQA unterschieden werden. Bei einer 3-OH-Verknüpfung liegt die relative Intensität des Peaks $m/z = 179$ ungefähr bei 50%, wohingegen bei einer 5-OH-Verknüpfung nur ein schwaches Signal mit einer relativen Intensität von ca. 5% zu sehen ist. Fragmente mit $m/z = 173$ ($[M-H-H_2O]^-$) deuten auf 4-CQA hin. Anhand dieser Informationen handelt es sich bei Peak 5 vermutlich um 3-CQA, bei Peak 16 und 19 um 5-CQA und bei Peak 17 um 4-CQA. Mit Hilfe der Retentionszeiten kann zwischen den *cis*- und *trans*-Isomeren der beiden 5-CQA unterschieden werden. Da das *cis*-Isomer der 5-CQA hydrophober als das *trans*-Isomer ist, handelt es sich bei Peak 16 vermutlich um die *cis*-Form und bei Peak 19 um die *trans*-Form (Clifford et al., 2008). Bei der 3-CQA und der 4-CQA hingegen ist die *trans*-Form hydrophober, woraus ein umgekehrtes Retentionsverhalten resultiert. Um ein Derivat einer Chlorogensäure handelt es sich vermutlich auch bei Peak 22, bei dem aus den Mutterionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 526$ Fragmente $m/z = 353$, 173 und 191 resultieren.

Peak 7, 12, 14 und 30 zeigen Mutterionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 515$, die als Isomere der Dikaffeoylchinasäure (DiCQA) zugeordnet werden können. Basierend auf den Fragmenten kann nach dem Schema von Clifford et al. (2005) auch die Verknüpfung der DiCQA-Isomere ermittelt werden. Peak 7 weist das größte Fragment mit $m/z = 353$ auf und ein kleineres mit $m/z = 191$. Im MS^2 entstehen die beiden Tochterionen $m/z = 191$ und 179, so dass eine 1,5-Verknüpfung vermutet werden kann. Peak 12 zeigt mit $m/z = 353$ das Fragment mit der höchsten Intensität und mit geringer Intensität weitere Fragmente $m/z = 335$, 299, 255 und 191. Im MS^2 entstehen Ionen mit $m/z = 191$, 179, 135 und 173, woraus insgesamt auf eine 3,4-Verknüpfung geschlossen werden kann. Peak 14 zeigt die gleiche Fragmentierung wie Peak 7 und Peak 30 wie Peak 12, weshalb daraus geschlossen werden kann, dass es sich um weitere Stereoisomere mit 1,5- und 3,4-Verknüpfung handelt.

Neben der freien Kaffeesäure konnten überdies zwei Kaffeesäurehexoside für Peak 9 und 13 zugeordnet werden. Es wurden in allen Beeren beide Kaffeesäureglykoside gefunden, wobei sich Peak 13 als zweitgrößter Peak im Profil der Heidelbeeren zeigt.

Peak 23 hat Mutterionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 335$ und Fragmente $m/z = 179, 135$ und 161 , wobei es sich vermutlich um Kaffeoylshikimisäure handelt. Das stimmt mit den in der Literatur genannten Daten überein (Hokkanen et al., 2009).

Zusätzlich zur freien Cumarsäure (Peak 20) wurden Peak 8, 11, 29 und 31 als Cumarsäurederivate eingeordnet. Bei Peak 8 handelt es sich vermutlich um ein Essigsäureaddukt eines Cumarsäurehexosids. Die Mutterionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 385$, zerfallen im MS^2 auf Ionen mit $m/z = 325$, woraus auf Grund des Neutral Loss von 60 Da die Adduktbildung mit Essigsäure geschlossen werden kann. Nach einem weiteren Neutral Loss von 162 Da entsteht das Cumarsäureanion ($m/z = 163$). Bei Peak 11 handelt es sich vermutlich um die 5-Cumaroylchinasäure (5-CoQA), was durch ein Fragment $m/z = 163$ mit größter Intensität und einem kleinen mit $m/z = 191$ angezeigt wird (Clifford et al., 2003). Juandjur et al. (2012) beschreiben in Heidelbeeren ebenfalls als einziges Cumaroylchinasäure-Isomer die 5-CoQA.

Peak 28 zeigt Mutterionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 433$ und Tochterionen mit $m/z = 323, 161, 221, 179$ und 203 . Peak 29 weist Ionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 417$, sowie Fragmente mit $m/z = 307, 145$ und 163 auf. Beide Verbindungen können in Übereinstimmung mit Hokkanen et al. (2009) als ein Kaffeoylhexose-Hydroxyphenol und ein Cumaroylhexose-Hydroxyphenol beschrieben werden. Diese Verbindungen wurden in Blättern von Hybriden der Heidelbeere identifiziert. In diesen Untersuchungen konnten die beiden Verbindungen nur in der Andenheidelbeere detektiert werden (s. Abbildung 42, S. 110).

Als einzige zeigt *V. corymbosum* Peak 31 mit Molekülionen $[M-H]^-$ mit $m/z = 499$ und Fragmenten mit $m/z = 337, 353, 163$ und 173 . Nach Vergleich mit der Literatur kann diese Verbindung als eine 3-Kaffeoyl-4-cumaroylchinasäure benannt werden (Clifford et al., 2006).

Neben freier Ferulasäure konnten in den Profilen der Beeren auch unterschiedliche Derivate detektiert werden. Darunter ließen sich ein Ferulasäurehexosid (Peak 18) und zwei Isomere der Feruloylchinasäure (FQA) vermuten. Die beide FQA-Isomere (Peak 24 und 27) haben ein Hauptfragment mit $m/z = 191$. Deshalb können sie nach dem Schema von Clifford et al. (2003) als *trans*- und *cis*-5-FQA zugeordnet werden.

Fazit

Insgesamt weisen die Profile der Beeren bei den Phenolcarbonsäuren Unterschiede auf. Insbesondere sind die verschiedenen großen 5-Chlorogensäure-Peaks in den Profilen auffällig. Isomere der Chlorogensäure sind die Hauptverbindungen in Blaubeeren, was mit den Literaturdaten übereinstimmt (Gavrilova et al., 2011). In *V. corymbosum* wurden alle der vier hier beschriebenen Isomere detektiert. In der Andenheidelbeere konnten zwei und in den restlichen Beeren nur die *cis*-5-CQA gefunden werden.

Die einzelnen *Vaccinium*-Spezies weisen sehr unterschiedliche Konzentrationen an Chlorogensäuren auf. Kulturblaubeeren sind mit $532,3 \pm 15,7$ mg/ 100 g FG die reichhaltigste Quelle. Wilde Blaubeeren haben $175,6 \pm 1,0$ mg/ 100 g FG und liegen ein wenig höher als Heidelbeeren mit $78,7 \pm 0,9$ - $112 \pm 1,8$ mg/ 100 g FG. Andenheidelbeeren haben mit $11,4 \pm 0,4$ mg/ 100 g FG die niedrigsten Gehalte. Auch andere Verbindungen der Kaffeesäure, wie Dikaffeoylchinasäuren, sind insbesondere in den Kulturblaubeeren vorherrschend. Im Gegensatz zu Blaubeeren mit vier Isomeren wurde in Heidelbeeren keines der Isomere detektiert. In Heidelbeeren befindet sich als eine zweite dominante Verbindung ein Kaffeesäurehexosid (Peak 13), das in allen anderen Beeren als ein deutlich kleinerer Peak zu sehen ist.

In Andenheidelbeeren sind von Vasco et al. (2009) bereits einige Hydroxyzimsäurederivate beschrieben worden. In der Studie sind ebenfalls zwei Chlorogensäure-Isomere sowie Derivate von p-Cumarsäure, Ferulasäure und Kaffeesäure aufgeführt. Einige der hier zugeordneten Verbindungen wurden jedoch von Vasco et al. (2009) nicht genannt, wie z.B. Ferulasäurehexosid, Dikaffeoylchinasäure sowie das Cumaroylhexose- und das Kaffeoylhexose-hydroxyphenol.

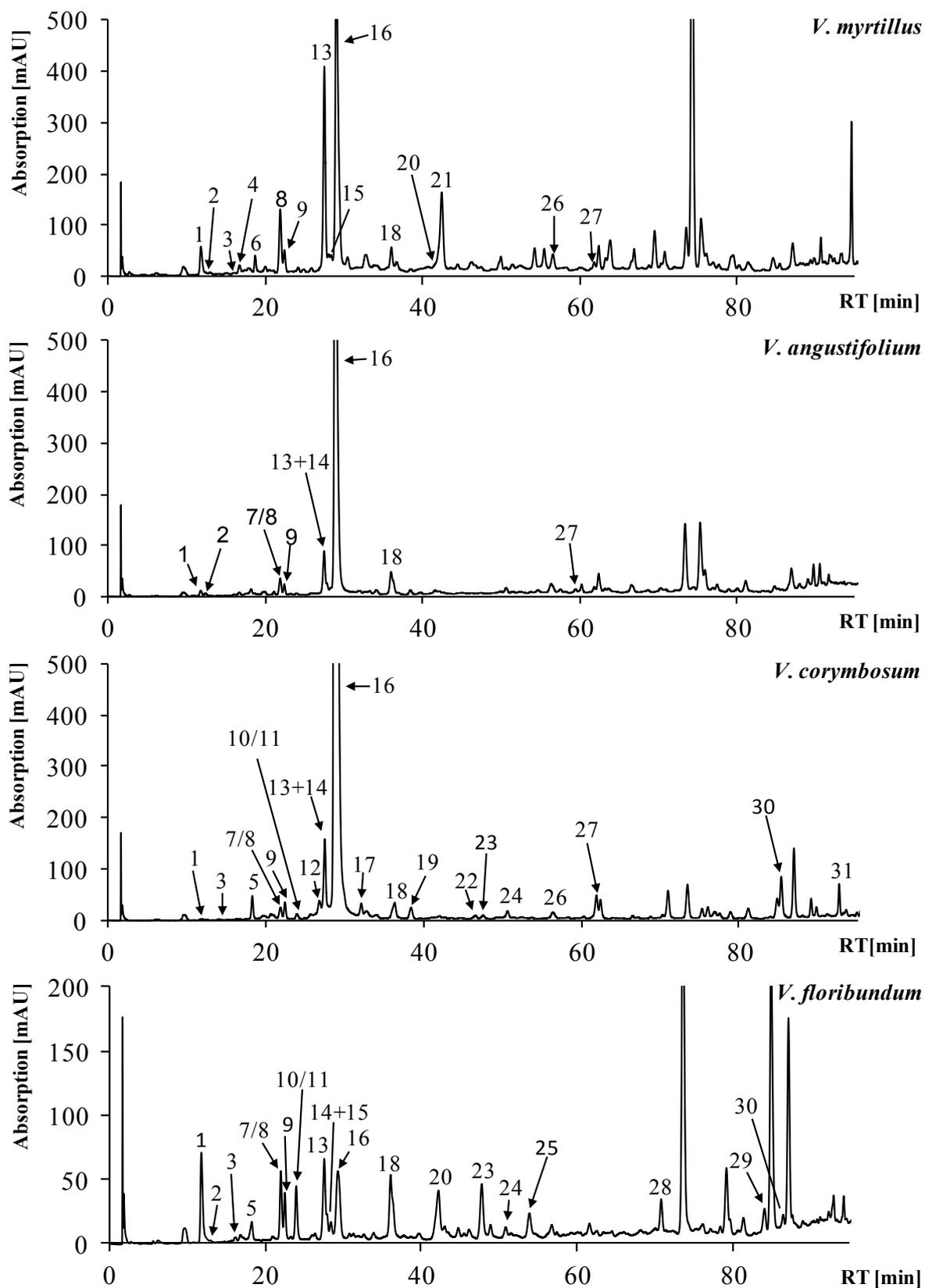


Abbildung 42: HPLC-Chromatogramme bei 310 nm der Methanolextrakte von Blau- und Heidelbeeren. Die Peaknumerierung bezieht sich auf Tabelle 26 (S. 111)

Tabelle 26: Massenspektrometrische Daten der detektierten Phenolcarbonsäuren in Blau- und Heidelbeeren. Die Peaknumerierung bezieht sich auf Abbildung 42 (S. 110)

Peak Nr.	RT [min]	Verbindung	λ_{\max}	[M-H] ⁻	Fragmente
1	11,94	Protocatechusäure	224, 260, 295	153	MS ² [153]: 109
2	12,61	Protocatechusäure-hexosid	-	315	MS ² [315]: 153, 165 MS ³ : [315-453]: 123
3	16,13	Protocatechusäure-hexosid	224, 254, 291	315	MS ² [315]: 153, 165 MS ³ : [315-453]: 123
4	16,74	Unbekannt	226, 273	461	MS ² [461]: 351, 323, 247 MS ³ [461-351]: 323, 307, 247, 219, 193
5	18,29	3-CQA	228, 325	353	MS ² [353]: 191, 179, 135 MS ³ [353-191]: 127, 173, 85, 191, 93
6	18,72	Chinasäurederivat	234, 320	369	MS ² [369]: 191 MS ³ [369-191]: 127, 173, 85, 191, 93
7	21,86	Dikaffeoylchinasäure	225, 297	515	MS ² [515]: 353, 191, 335 MS ³ : [515-353]: 191, 179
8	21,86	Cumarsäurehexosid		385	MS ² [385]: 325 MS ³ : [385-325]: 163
9	22,43	Kaffeesäurehexosid	234, 290, 318	341	MS ² [341]: 179, 191, 119 MS ³ : [341-179]: 135
10	22,43	unbekannt		371	MS ² [371]: 209, 149, 343 MS ³ : [371-209]: 149
11	23,93	Cumaroylchinasäure	311	337	MS ² [337]: 163, 191 MS ³ : [337-163]: 119
12	26,79	Dikaffeoylchinasäure	225, 297, 327	515	MS ² [515]: 353, 395, 437, 191 MS ³ : [515-353]: 191, 179, 135
13	27,47	Kaffeesäurehexosid	233, 313	341	MS ² [341]: 179, 135 MS ³ : [341-179]: 135
14	27,89	Dikaffeoylchinasäure	-	515	MS ² [515]: 335, 353, 191, 395 MS ³ : [515-323]: 161, 133, 179
15	28,37	Kaffeesäure	297, 323	179	-
16	29,19	cis-5-CQA	239, 328	706/ 353	MS ² [353]: 191, 179, 135 MS ³ : [353-191]: 127, 173, 85, 191, 93
17	32,09	4-CQA	245, 327	353	MS ² [353]: 173, 191, 179, 135 MS ³ : [353-191]: 127, 173, 85, 191, 93
18	36,31	Ferulasäure-hexosid	240, 328	355	MS ² [355]: 193, 217, 175 MS ³ : [355-193]: 134, 149, 178
19	38,38	trans-5-CQA	240, 313	353	MS ² [353]: 191, 179 MS ³ : [353-191]: 127, 173, 85, 191, 93
20	42,16	p-Cumarsäure	227, 311	163	-
21	42,44	Anthocyan	227, 327, 578	496	-
22	46,56	5-CQA-derivat	245, 327	527	MS ² [526]: 353, 173, 191, 467 MS ³ : [526-353]: 191
23	47,52	Kaffeoylshikimisäure	228, 298, 325	335	MS ² [335]: 179, 135, 161 MS ³ : [335-179]: 135
24	50,61	trans-Feruloylchinasäure	298, 324	367	MS ² [367]: 191, 173 MS ³ : [367-191]: 127, 173, 85, 191, 93
25	53,82	Ferulasäure	227, 311	193	-
26	56,34	Vanillinsäurederivat	226, 265, 302	333	MS ² [333]: 167, 193, 207, 125 MS ³ : [333-167]: 123, 81, 125
27	61,88	cis-Feruloylchinasäure	225, 298, 327	367	MS ² [367]: 179, 135, 191 MS ³ : [367-179]: 135

28	70,77	Caffeoylhexose- hydroxyphenol	245, 297, 326	433	MS ² [433]: 323, 161, 221, 179, 203 MS ³ : [433–323]: 179, 221, 263, 161, 135
29	84,04	Cumaroylhexose- hydroxyphenol	226, 312	417	MS ² [417]: 307, 145, 163 MS ³ : [417–307]: 145, 163, 187, 247, 119
30	85,34	Dikaffeoylchinasäure	239, 298, 326	515	MS ² [515]: 353, 335, 191 MS ³ : [515–353]: 191, 179, 135
31	92,68	3-Kaffeoyl-4- Cumaroylchinasäure	317	499	MS ² [499]: 337, 353, 163, MS ³ : [499–337]: 163, 173, 191, 119

Cumaroyliridoidglykoside

Hokkanen et al. (2009) identifizierten in den Blättern von *V. myrtillus* und *V. vitis-idaea* Cumaroylmonotropein und zeigten das Fragmentierungsmuster im positiven Ionisierungsmodus auf. Im negativen Modus ist die Fragmentierung analog. Montropein bildet Molekülonen $[M-H]^-$ mit $m/z = 535$, wohingegen das 6,7-Dihydromontropein Molekülonen $[M-H]^-$ mit $m/z = 537$ bildet. Im MS konnte nach Abspaltung der Cumarsäure (Fragment m/z 163) und des Zuckers das Fragment des Iridoids von Montropein ($m/z = 330$), bzw. Dihydromontropein ($m/z = 328$) gefunden werden. Weitere Fragmente entstehen durch Wasserabspaltung und Decarboxylierung (s. Abbildung 43).

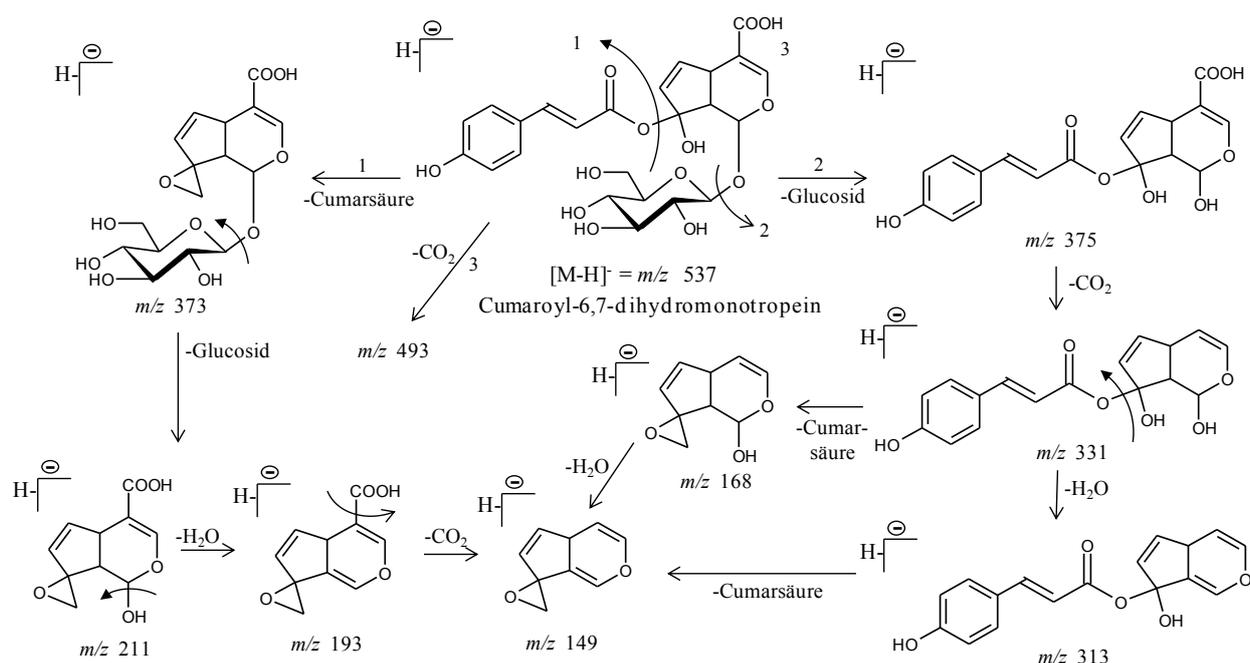


Abbildung 43: Vorgeschlagerener Fragmentierungsweg des Cumaroyl-6,7-dihydromontropeins im negativen Ionisierungsmodus in der Ionenfalle (modifiziert nach Hokkanen et al. (2009)). Das Cumaroylmonotropein fragmentiert analog

Durch die gebundene Cumarsäure zeigen die Iridoide eine gute UV-Absorption auf. Ihr Maximum liegt wie bei den Phenolcarbonsäuren bei 311 nm. Eine Unterscheidung mit Hilfe der UV-Detektion ist neben der MS-Detektion somit gut möglich (s. Abbildung 44, S. 113).

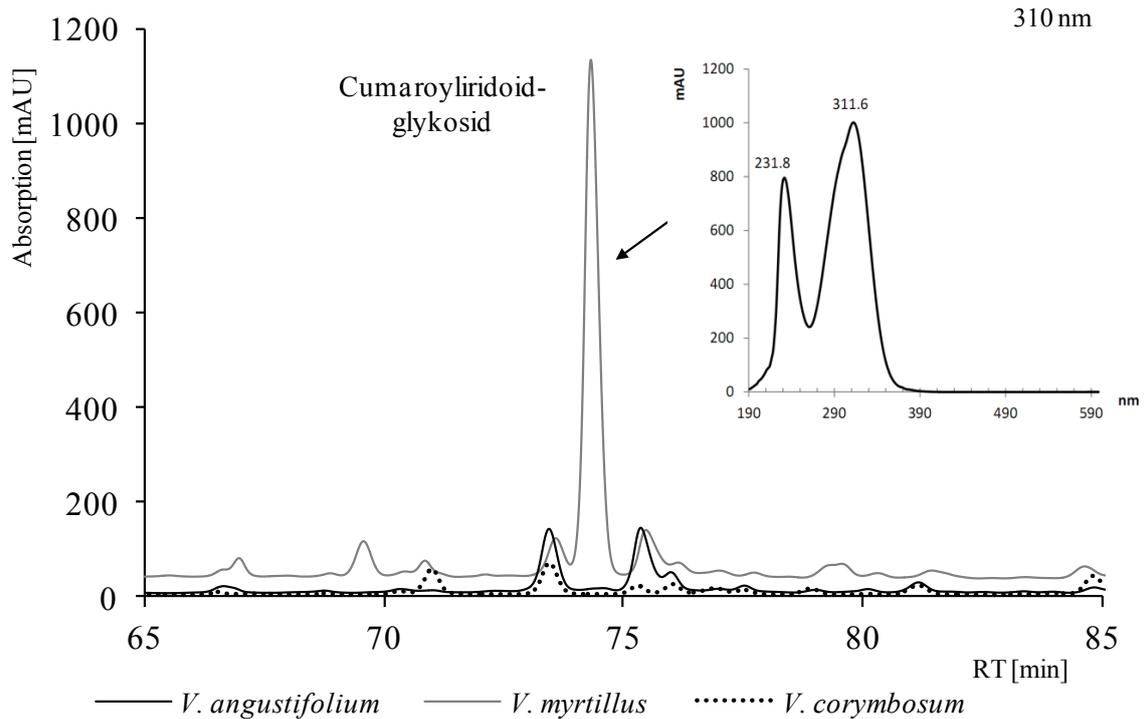


Abbildung 44: Vergleich der Chromatogramme von Blau- und Heidelbeeren bei 310 nm im Hinblick auf das Cumaroyliridoid

In Heidelbeeren (*V. myrtillus*) wurden jeweils beide Stereoisomere (*cis* und *trans*) der Cumaroyliridoidglykoside gefunden. In allen untersuchten Blaubeeren (*V. angustifolium* und *V. corymbosum*) und auch in Andenheidelbeeren (*V. floribundum*) konnten keine Cumaroyliridoidglykosid detektiert werden. Dies wäre somit eine gute Möglichkeit zur Unterscheidung von europäischen Heidelbeeren zu Blaubeeren (*V. corymbosum* und *V. angustifolium*).

2.5 Prüfung der Authentizität verschiedener Cranberryprodukte aus dem Handel

Teile der Ergebnisse dieser Arbeit führten zur Fällung eines Gerichtsurteils des Oberlandesgerichtes in Celle (siehe Anhang, S. 158) zum Thema Authentizität von Cranberryprodukten. Demnach liegt eine Irreführung des Verbrauchers vor, wenn Produkte aus z.B. Moosbeere oder anderen *Vaccinium*-Spezies fälschlicherweise als Cranberryprodukte verkauft und beworben werden. Es kann ein Ordnungsgeld von bis zu 250.000 Euro gefordert werden (Celle, 2012). Um eine Überprüfung von Cranberryprodukten auf dem Markt zu gewährleisten, bedarf es folglich einer Methode die sich für die unterschiedlichen Produkte eignet.

Aufgrund der gesundheitlichen Aspekte und wegen der Einzigartigkeit der Verbindungen, wurde als Unterscheidungsmerkmal das Profil der A-Typ-Procyanidin-trimere ausgewählt. In nicht eindeutigen Fällen wurden zusätzlich weitere Parameter wie z.B. die Anthocyane betrachtet. In einer wissenschaftlichen Abschlussarbeit von Propson (2012) wurden 77 unterschiedliche Cranberryprodukte aus dem Handel (auch aus dem europäischen Ausland) nach der in dieser Arbeit entwickelten Methode zur Prüfung der Authentizität (Jungfer, et al., 2012) untersucht. Hierbei wurden Muttersäfte, Nektare, Fruchtsaftgetränke, Smoothies, Nahrungsergänzungsmittel, Müsliriegel, Studentenfutter, Konfitüren, Gelees, Fruchtaufstriche, Saucen, eingelegte Beeren und getrocknete Cranberrys analysiert (siehe Anhang A7, S. 162).

Fruchtsäfte, Fruchtsaftgetränke, Smoothies und Sirupe:

Insgesamt wurden 9 Muttersäfte, 6 reine Cranberrynektare, 8 unterschiedliche Mehrfruchtsäfte bzw. Nektare, 7 Fruchtsaftgetränke oder Ähnliches und 2 Smoothies untersucht. (Anzahl 30)

Bei den Fruchtsäften bedarf es keiner vorherigen Extraktion, sie müssen lediglich einer SPE unterzogen werden, wie sie in Abschnitt 3.3.2 (S. 122 ff.) beschrieben wurde. Es wurden nicht nur Muttersäfte und reine Fruchtsäfte, bzw. Nektare aus Cranberry, sondern auch Mischungen mit anderen Fruchtsäften wie z.B. Apfel, Traube oder Granatapfel, untersucht und geprüft, ob eine Zuordnung anhand des Profils der selten vorkommenden A-Typ-Trimere möglich ist. Dabei muss ausgeschlossen werden können, dass die anderen Säfte der Mischung ebenfalls diese Trimere enthalten oder aufgrund anderer Interferenzen eine Prüfung der Authentizität mittels dieser Parameter nicht möglich ist. In Abbildung 45 (S. 115) sind die im MS erhaltenen Chromatogramme der SPE-Eluate der unterschiedlichen Fruchtsaftmischungen dargestellt. Auch in komplizierten Matrices wie z.B. Granatapfel ist deutlich der Zusatz von Cranberry erkennbar, da die A-Typ-Trimere in den anderen Komponenten nicht enthalten sind (s. Anhang Abbildung 52, S. 177).

anderen Säften oder auch in Fruchtsaftgetränken kann der Gehalt jedoch deutlich niedriger sein. Die geringste Angabe betrug 4%. Neben den gering konzentrierten Handelsproben wurde ein Cranberrymuttersaft auf 1% verdünnt, wobei es dennoch gelungen ist auch hier das Procyanidintrimerprofil der Cranberry wiederzuerkennen.

Eine Authentizitätsbestimmung von Sirupen anhand von Polyphenolprofilen ist oftmals nicht möglich, da diese keine phenolischen Verbindungen enthalten, sondern lediglich ihren Geschmack durch Aromastoffe bekommen. Auch in den aus Cranberrys hergestellten Sirupen konnten kaum phenolische Inhaltsstoffe detektiert werden, was vermutlich aus dem Herstellungsprozess resultiert.

Getrocknete und eingelegte Cranberrys:

Bei der Bestimmung der Authentizität von getrockneten und eingelegten Cranberrys bieten die Luftkammern der Cranberry ein optisch eindeutiges Identifizierungsmerkmal. Weder die Moosbeere noch die Preiselbeere haben Luftkammern. Bei zerkleinerten getrockneten Cranberrys, wie z.B. in Müsli, Müsliriegeln oder Studentenfutter, ist dies jedoch nicht immer eindeutig zu erkennen. Auch für diese Matrix konnte die Methode erfolgreich angewendet werden.

Nahrungsergänzungsmittel:

Die Schwierigkeit bei der Untersuchung von Nahrungsergänzungsmitteln ist die Matrix, da viele Hilfs- und Trägerstoffe sowie zusätzliche Inhaltsstoffe wie z.B. Kürbisextrakt eingesetzt werden, die die Chromatographie erschweren. Nahrungsergänzungsmittel werden in der Regel aus Cranberryextrakt hergestellt und es bleibt unklar, wie dabei vorgegangen wurde und ob dieser aus Reststoffen wie z.B. Trester hergestellt wurde. Weiterhin unklar ist der enthaltene Procyanidinanteil, weil dieser oft nicht angegeben ist, da es noch keine genaue Dosierungsempfehlung gibt. Um auch die Herstellung aus Reststoffen zu berücksichtigen, wurde ebenfalls das Muster der Trimere in Cranberrytrester untersucht und es konnte das charakteristische Profil erkannt werden.

Bei der Probenaufarbeitung wurde je nach Art der Kapseln und Darreichungsform (Pulver) unterschiedlich vorgegangen. Insgesamt wurden 10 verschiedene Produkte untersucht und auch hier kann mit Hilfe der entwickelten Methode eindeutig die Cranberry zugeordnet werden. In zwei der Proben konnten keine A-Typ-Trimere gefunden werden, so dass unklar ist, ob überhaupt ein *Vaccinium*-Extrakt verwendet wurde. Ein Verlust der Trimere während der Probenaufarbeitung kann hierbei ausgeschlossen werden, da bei identischer Matrix und gleicher Darreichungsform eine Zuordnung eindeutig möglich war. Ein interessanter Aspekt hierbei ist die Herstellung der Nahrungsergänzungsmittel. Auf der Verpackung sind unterschiedliche Ausgangsprodukte, wie Saftpulver, Cranberryextrakt oder -konzentrat angegeben, so dass der Herstellungsprozess eine mögliche Ursache für das Fehlen der Procyanidine sein könnte. Dennoch gibt es begründete Zweifel an der Authentizität der beiden Nahrungsergänzungsmittel und im Vergleich zu den anderen Produkten ist ihr Einsatz in der Prävention gegen Harnwegserkrankungen fragwürdig.

Authentizität der Handelsprodukte:

Tabelle 27 gibt einen Überblick über die Ergebnisse der untersuchten Handelsproben. Von den insgesamt 77 untersuchten Proben wurden fünf als nicht authentisch getestet. Darunter waren ein Fruchtsaftgetränk, ein Fruchtaufstrich und eingelegte Cranberrys. Es konnte eindeutig die Verwendung von Moosbeeren nachgewiesen werden. Zudem sind zwei der Nahrungsergänzungsmittel fragwürdig, da keine A-Typ-verknüpften Trimere detektiert wurden.

Zwei der sieben polnischen Proben konnten als Moosbeere identifiziert werden. Eine davon ist auch mit dem lateinischen Namen *Oxycoccus Palustris* als diese gekennzeichnet. Die anderen Produkte sind mit der Bezeichnung *Żurawina* gekennzeichnet. Jedoch ist unklar wie die Übersetzung lautet. Es kann damit sowohl Cranberry, Moosbeere als auch Preiselbeere gemeint sein. Vier weitere Produkte, ebenfalls mit der Bezeichnung *Żurawina*, wurden als Cranberry identifiziert. In einem der Sirupe konnten keine phenolischen Verbindungen detektiert werden, da vermutlich nur Aroma enthalten ist. Die Namensgebung bleibt folglich noch ein ungeklärtes Problem und es besteht auch in anderen Ländern ein Klärungsbedarf.

Trotz der oftmals schwierigen Matrix der unterschiedlichen Produkte (s. Zutaten in Probenliste Anhang, S. 162 ff.), konnte diese Methode bei den verschiedenen Erzeugnissen erfolgreich angewendet werden. Vor allem sollte zukünftig ein besonderes Augenmerk auf die Nahrungsergänzungsmittel gelegt werden, da sie explizit zur Prävention von Harnwegserkrankungen verzehrt werden und hier die Authentizität für den therapeutischen Nutzen ausschlaggebend ist.

Tabelle 27: Zusammenfassung der Ergebnisse der untersuchten Handelsproben

Untersuchte Produkte (Anzahl)	Authentisch	Nicht authentisch
Muttersäfte (9)	9	-
Mehrfruchtsaft/ -nektar (9)	9	-
Nektar, nur Cranberry (7)	7	-
Fruchtsaftgetränk (7)	7	1
Smoothie(2)	2	-
Sirup (3)	3	-
Eingelegte Beeren (6)	6	1
Getrocknete Beeren, Studentenfutter und Müsliriegel (15)	15	-
Fruchtaufstriche, Konfitüren und Soßen (8)	8	1
Nahrungsergänzungsmittel (10)	10	2
Summe (77)	72	5 (6,9%)

3 Material und Methoden

3.1 Chemikalien

Chemikalie	Hersteller
Lösungsmittel	
Acetonitril (LC-MS grade)	Th. Geyer GmbH
Methanol (LC-MS grade)	Th. Geyer GmbH
Bidest. Wasser	Milipore Anlage
Essigsäure	Sigma
Ameisensäure (p.A.)	Fluka
Ameisensäure (LC-MS grade)	Fluka
0,1 M Salzsäure	Fluka
DMSO	VWR International S.A.S Prolabo
Aceton	Merck
Dimethylaminobenzaldehyd	Sigma
Ethanol (p. A)	Merck
Standardverbindungen	
Rutin	Sigma
Quercetin (Dihydrat)	Sigma
Chlorogensäure (5-CQA)	Sigma
Kaffeensäure	Sigma
Protocatechusäure	Sigma
Procyanidin A2	Extrasynthese
Procyanidin B1	Extrasynthese
Procyanidin B2	Extrasynthese
Catechin (98 %, Hydrat)	Sigma
Epicatechin	Sigma
Quercetin-3-O-glucopyranosid	Extrasynthese
Myricetin	Sigma
Kämpferol	Sigma
Sinapinsäure	Sigma
p-Cumarsäure	Sigma
Peonidin-3-O-glucosid	Extrasynthese
Cyanidin-3-O-rutinosid	Extrasynthese
Delphinidin-3-O-glucosid	Extrasynthese
Pelargonidin-3-O-glucosid	Extrasynthese
Cyanidin-3-O-glucosid	Extrasynthese
Cyanidin-3,5-diglucosid	Extrasynthese

3.2 Probenmaterial

Tabelle 28 (S. 120) gibt einen Überblick über die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Beeren, sowie deren Herkunft, Erntejahr und Wassergehalt. Einige der Beeren wurden von Rabenhorst O. Lauffs GmbH & Co. KG zur Verfügung gestellt. Darunter waren die sortenreinen Cranberrys aus Kanada, die Cranberry-Sortenmischung aus Nordamerika, Moosbeeren, bio Heidelbeeren, *Vaccinium angustifolium* aus Kanada sowie die Preiselbeeren aus China und Europa. Zusätzlich konnten Cranberrys und Moosbeeren aus Polen bezogen werden. Diese Cranberrys wurden von der Gärtnerei Grabczewsky zur Verfügung gestellt, und die Moosbeeren wurden im Zuge eines wissenschaftlichen Austausches (2010) aus Polen mitgebracht.

Zudem wurden weitere Cranberrys im Einzelhandel sowie unterschiedliche Handelsprodukte aus Supermärkten, Drogerien und Apotheken (Liste s. Anhang A7, S. 162 ff.) erworben. Wahrscheinlich handelt es sich hierbei oftmals um Erzeugnisse aus Beeren der Firma Ocean Spray Inc. und somit vermutlich um Sortenmischungen. Ocean Spray Inc. ist Marktführer der Cranberryindustrie. Es handelt sich hierbei um eine Erzeugergemeinschaft von 600 Farmern, die an der Vermarktung ihrer Beeren maßgeblich beteiligt sind. Cranberrys von Ocean Spray werden als eine Mischung aus verschiedenen Sorten angeboten, da die Beeren von den unterschiedlichen Cranberryfarmern der Genossenschaft stammen. Durch eine Mischung der Sorten soll eine gleichbleibende Qualität garantiert werden. Es kann also davon ausgegangen werden, dass eine Vielzahl der Produkte auf dem Markt aus den Rohwaren von Ocean Spray hervorgehen (Ocean Spray Cranberries Inc., 2012).

Weiterhin wurden von der Fruchtsaftindustrie (Rabenhorst O. Lauffs GmbH & Co. KG) folgende authentische Muttersäfte zur Verfügung gestellt:

- Cranberrymuttersaft (*V. macrocarpon*)
- Moosbeermuttersaft (*V. oxycoccus*)
- Preiselbeermuttersaft (*V. vitis-idaea*)
- Heidelbeermuttersaft (*V. myrtillus*)

Bei den gekauften TK-Kulturheidelbeeren handelt es sich sehr wahrscheinlich um *V. angustifolium*, da die Beeren wesentlich kleiner als *V. corymbosum* sind und das Aussehen mit den authentischen Beeren aus Kanada übereinstimmt.

Andenheidelbeeren wurden im Rahmen einer Diplomarbeit (Güttler, 2011) aus Quito mitgebracht.

Tabelle 28: Herkunft, Erntejahr und Wassergehalt der untersuchten *Vaccinium*-Spezies

<i>Vaccinium</i> -Spezies	Varietät	Ursprung	Erntejahr	Wasser (%)
<i>Vaccinium macrocarpon</i>	Mix	Nordamerika	2009	88,5
<i>Vaccinium macrocarpon</i>	Grygleski	Aylesford, Canada (CA)	2010	86,9
<i>Vaccinium macrocarpon</i>	Stevens	Aylesford, Canada (CA)	2010	87,7
<i>Vaccinium macrocarpon</i>	Ben Liar	Aylesford, Canada (CA)	2010	87,8
<i>Vaccinium macrocarpon</i>	Pilgrim	Aylesford, Canada (CA)	2010	87,7
<i>Vaccinium macrocarpon</i>	Pilgrim	Runów, Poland (PL)	2010	87,3
<i>Vaccinium macrocarpon</i>	Mix	Aldi (Nordamerika)	2011	89,4
<i>Vaccinium macrocarpon</i>	Mix	Rewe (Canada)	2012	89,8
<i>Vaccinium oxycoccus</i>	Wild	Europa (EU)	2009	88,6
<i>Vaccinium oxycoccus</i>	Wild	Bioladen in Polen (PL): Herkunft PL	2010	88,6
<i>Vaccinium vitis-idaea</i>	Wild	Europa (EU)	2009	83,5
<i>Vaccinium vitis-idaea</i>	Wild	China (CN)	2009	85,1
<i>Vaccinium myrtillus</i>	Bio, wild	Rabenhorst, Herkunft unbekannt	2009	85,7
<i>Vaccinium myrtillus</i>	Wild	Gemüsehändler, Herkunft: Deutschland	2012 gekauft	86,1
<i>Vaccinium myrtillus</i>	Wild	Metro, Herkunft: Polen	2012 gekauft	87,0
Kulturheidelbeere: <i>Vaccinium corymbosum</i>	Kultur	Rewe, Herkunft: Chile	2012 gekauft	83,3
TK-Kulturheidelbeere: <i>Vaccinium angustifolium</i>	Kultur	Edeka, Herkunft unbekannt	2011 gekauft	85,7
<i>Vaccinium angustifolium</i>	Wild	Aylesford, Canada (CA)	2010	84,3
<i>Vaccinium floribundum</i> (Andenheidelbeere)	Wild	Ecuador, Markt in der Nähe von Quito	2010 (Okt.)	84,6

3.3 Probenvorbereitung

Vor der Extraktion der Polyphenole wurden die Beeren zunächst gefriergetrocknet (Gefrier Trocknungsanlage: Christ, Osterode am Harz) und anschließend mit einer Kugelmühle (Retsch, Haan) zu einem feinen Pulver vermahlen (2 min, Amplitude 100).

3.3.1 Extraktion verschiedener Polyphenole aus den Beeren

3.3.1.1 Flavonole, Phenolcarbonsäuren, Cumaroyliridoidglykoside und Proanthocyanidine

Die Extraktion erfolgte durch beschleunigte Lösungsmittlextraktion mit einer ASE 200 (Dionex, Idstein) mit Solvent Controller. Zunächst wurden die Stahlextraktionszellen (11 ml Nennvolumen) zum Schutz der Metallfritte mit einem Cellulosefilter (Schleicher & Schüll, Dassel) versehen. Anschließend wurde jeweils 0,5 g des Probenpulvers mit ca. 4 g Hydromatrix (Biotage, Upsala, Schweden) homogenisiert und in die Extraktionszellen aus Edelstahl gefüllt, zusammengepresst, mit einem weiteren Cellulosefilter versehen und zusammengeschraubt. Die Extraktion der Beeren erfolgte in zwei Zyklen je 10 Minuten Extraktionszeit mit einem Lösemittel-Spülvolumen das 50% des Zellvolumens beträgt.

Lösungsmittel:

- Extraktion der Flavonole, Phenolcarbonsäuren und Cumaroyliridoidglykoside: Methanol/ Wasser (70 + 30; v + v)
- Extraktion der Proanthocyanidine: Aceton/ Wasser (70 + 30; v + v)

Parameter der beschleunigten Lösungsmittlextraktion:

- Temperatur: Raumtemperatur
- Druck: 199,9 bar
- Dauer der Extraktion: 10 min
- Zyklen: 2
- Lösemittelspülung: 50% des Zellvolumens
- Stickstoffspülung: 60 sec

Für die Extraktion mit unterschiedlicher Temperatur wurden analoge Extraktionsbedingungen gewählt und nur die Temperatur verändert.

3.3.1.2 Anthocyane

Die Extraktion der Anthocyane aus den verschiedenen Beeren erfolgte in Anlehnung an die Methode von Wu & Prior (2005). Hierzu wurde ca. 0,5 g der vermahlenden Beeren eingewogen. Es wurde zweimal mit 3 ml Methanol + Wasser + Essigsäure

(70 + 29 + 1; v + v + v) extrahiert. Hierzu wurden die Proben mit dem Extraktionsmittel jeweils für 10 min. in ein Ultraschallbad gestellt, die Überstände abzentrifugiert und vereinigt. Zur Quantifizierung wurde jede Probe dreimal extrahiert und in Doppelbestimmung gemessen.

Vor der Injektion in die HPLC wurden die Extrakte mit einem Chromafil RC-45/ 15 MS Cellulose Membranfilter 0,45 µm (Machery Nagel, Düren) filtriert.

3.3.2 Automatisierte Festphasenextraktion von Beeren und Beerensäften

Zur Vorbereitung der Beerenextrakte für die SPE wurde das Lösungsmittel mit Hilfe eines Stickstoffstroms entfernt und die eingedampften Extrakte mit bidest. Wasser auf 30 mL aufgefüllt. Jeder Extrakt wird mit 300 µL Ameisensäure angesäuert.

Die Muttersäfte wurden zunächst bei 4 °C, 5000 rpm 5 min. zentrifugiert (Zentrifuge: Heraeus, Osterode), um die Schwebeteilchen abzutrennen, damit die Kartusche nicht überladen wird. Anschließend wurden 10 mL Saft mit 10 mL bidest. Wasser verdünnt. Jede Probe wurde mit 300 µL Ameisensäure angesäuert.

Die Durchführung der SPE erfolgte mit Hilfe des Pipettierroboters ASPEC XLi der Firma Gilson (vertrieben durch Abimed, Langenfeld). Dieser ist mit einer Spritzenpumpe 402, die mit zwei Spritzen – einmal 1 mL und einmal 25 mL – ausgestattet ist (Gilson, Bad Camberg). Die Gerätesteuerung konnte mit der Software 735 V4.03 (Gilson, Bad Camberg) gewährleistet werden.

Parameter der optimierten SPE:

Kartuschenmaterial: Chromabond HR-XC, 3 mL, 200 mg (Machery Nagel, Düren)

Ablaufschritte der automatisierten Festphasenextraktion der Beerenextrakte:

- Konditionierung: 5 mL DMSO, 5 mL bidest. Wasser
- Auftragen der Probe: 15 ml Probe
- Waschen: 5 mL 0,1 M HCl
- Auftragen der Probe: 15 ml Probe
- Waschen: 5 mL 0,1 M HCl
- Elution: die ersten 0,5 mL wurden verworfen, anschließend wurde mit 3 mL DMSO eluiert

Ablaufschritte der automatisierten Festphasenextraktion der Muttersäfte:

- Konditionierung: 5 mL DMSO, 5 mL bidest. Wasser
- Auftragen der Probe: 20 ml Probe
- Waschen: 20 mL 0,1 M HCl
- Elution: die ersten 0,5 mL wurden verworfen, anschließend wurde mit 3 mL DMSO eluiert

3.4 Geräte und Analysenmethoden

3.4.1 Identifizierung und Quantifizierung der Polyphenole mittels HPLC-UVDAD-MSⁿ

Für die Trennung der Polyphenole wurde folgendes System verwendet:

HPLC:	“Summit“ (Dionex)
Pumpe:	Ultimate 3000 Pump
Autosampler:	ASI-100 T (Dionex)
Säulenofen:	STH-585 (Dionex)
Detektor:	Ultimate 3000 Diode Array Detector (Dionex)
Software:	„Chromeleon“ Version 6.80 (Steuerung und Auswertung)

Zur massenspektrometrischen Detektion wurde ein Ionenfallenmassenspektrometer LCQ Classic (Thermo Fischer Scientific) mit einem Electrospray-Interface (ESI) zur Ionisierung verwendet. Im Verlauf der Arbeit wurde es durch ein LTQ XL (lineare Ionenfalle) ersetzt. Die Steuerung des MS und die Auswertung der Daten erfolgte mit der Software „Xcalibur“.

3.4.2 Identifizierung von Flavonolen, Phenolcarbonsäuren, Cumaroyliridoidglykosiden und Proanthocyanidinen

Bedingungen der HPLC:

Mobile Phase A:	0,1 % Essigsäure in Wasser
Mobile Phase B:	0,1 % Essigsäure in Acetonitril
Säule:	Aqua RP 18 Phenomenex 150*2,0 mm, 3 μ Isis RP 18 150*2,0 mm, 3 μ (Macherey Nagel)
Temperatur:	35 °C
Flussrate:	0,3 mL/ min
Injektionsvolumen:	10 μ L

Gradientenprogramm Aqua 120 min:

1 min., 0% B; 1-15 min., 5% B; 15-40 min., 8% B; 40-70 min., 14% B; 70-80 min., 15% B; 80-95 min., 25% B; 95-110 min., 40% B; 110-111 min., 100% B; 111-115 min., 100% B; 115-116 min., 0% B; 116-120 min., 0% B.

Gradientenprogramm Isis 110 min.:

1 min., 0% B; 1-15 min., 5% B; 15-40 min., 8% B; 40-70 min., 14% B; 70-80 min., 15% B; 80-95 min., 25% B; 95-96 min., 100% B; 96-105 min., 100% B; 105-106 min., 0% B; 106-110 min., 0% B.

Parameter der Ionisierung und massenspektrometrischen Detektion mit LCQ Classic:

Parameter	
Tuning	Rutin
Polarität	Negative
Source Voltage	- 4,0 kV
Sheath Gas Flow	90
Auxiliary Gas Flow	60
Capillary Voltage	- 10 V
Capillary Temperature	300,0 °C
Tube Lens Offset	+ 20 V
First Octapole Offset	+ 4 V
Interoctapole Lens	+ 30 V
Second Octapole Offset	+ 10 V
Trap DC Offset	+ 10 V
Isolation width	2.8 m/ z
Norm. Coll. Energy	40 %
Fragmentation time	30 msec
Activation Q	0.25

Parameter der Ionisierung und massenspektrometrischen Detektion mit LTQ XL:

Parameter	Segment 1: 0-60 M _r	Segment 2: 60-120 M _r
Tuning	Chlorogensäure	Rutin
Polarität	negativ	negativ
Source Type	ESI	ESI
Capillary Temp	300 °C	300 °C
Sheath Gas Flow	73,00	59,00
Auxiliary Gas Flow	44,00	45,00
Sweep Gas Flow	3,00	3,00
Source Voltage	5,00 kV	5,00 kV
Source Current	100 uA	100 uA
Capillary Voltage	-12,00 V	-0,50 V
Tube Lens	-64,00 V	-75,00 V
Skimmer Offset	0,00 V	0,00 V
Multipole RF	510 Vp-p	270 Vp-p
Amplifier Multipole 00 Offset	4,70 V	5,70 V
	3,40 V	5,40 V
Lens 0 Voltage	4,80 V	6,20 V
Multipole 0 Offset	12,00 V	17,00 V
Lens 1 Voltage	71,00 V	77,00 V
Gate Lens Offset	10,50 V	16,50 V
Multipole 1 Offset	66,00 V	55,00 V
Front Lens		

3.4.3 Identifizierung und Quantifizierung der Anthocyane

Bedingungen der HPLC:

Mobile Phase A:	5% vol Ameisensäure in Wasser
Mobile Phase B:	Methanol
Säule:	Zorbax SB Agilent Aqua RP 18 Phenomenex 150*2,0 mm, 3 μ
Temperatur:	35 °C
Flussrate:	0,3 mL/ min
Injektionsvolumen:	10 μ L

Gradientenprogramm modifiziert in Anlehnung an Wu & Prior (2005) (für Aqua und Zorbax, 90 min.):

- Heidelbeeren und Blaubeeren

2 min., 5% B; 2-6 min., 20 % B; 6-21 min., 20 % B; 21-36 min., 22% B; 36-48 min., 25% B; 48-54 min., 28 % B; 54-56 min., 28% B; 56-67 min., 30% B; 67-72 min., 33% B; 72-77 min., 33% B; 77-80 min., 70% B; 80-84 min., 70% B; 84-87 min., 5% B; 87-90 min., 5% B.

- Cranberrys, Moosbeeren und Preiselbeeren:

2 min., 5% B; 2-10 min., 20% B; 10-15 min., 20 % B; 15-35 min., 25 % B; 35-40 min., 25% B, 40-42 min., 33% B; 42-45 min., 70% B; 45-50 min., 70% B; 50-52 min., 5% B; 52-52 min., 5% B.

Parameter der Ionisierung und massenspektrometrischen Detektion (LTQ XL):

Parameter	
Tuning	Delphinidin-3-O-glucosid
Polarität	positiv
Source Type	ESI
Capillary Temp	300 °C
Sheath Gas Flow	53,00
Aux Gas Flow	30,00
Sweep Gas Flow	4,00
Source Voltage	5,00 kV
Source Current	100 μ A
Capillary Voltage	26,00 V
Tube Lens	72,00 V
Skimmer Offset	0,00 V
Multipole RF	750 Vp-p
Amplifier Multipole 00 Offset	5,70 V
Lens 0 Voltage	3,20 V
Multipole 0 Offset	5,70 V
Lens 1 Voltage	9,00 V
Gate Lens Offset	59,00 V
Multipole 1 Offset	12,50 V
Front Lens	69,00 V

Fragmentation time	30 msec
Activation Q	0,25
Activation time	30
Collision Energy	35

Die Quantifizierung erfolgte anhand der externen Standards Peonidin-, Delphinidin- und Cyanidin-3-O-glucosid im Konzentrationsbereich von 0,2-0,007 mg/ mL. Die Molekülmasse der individuellen Anthocyane wurde durch Multiplikation mit einem Faktor (Molekülmasse des zu quantifizierenden Anthocyan/ Molekülmasse Standard) in der Berechnung berücksichtigt.

3.4.4 Quantifizierung von Procyanidinen mittels UHPLC-Quadrupole-MS

Zur Quantifizierung der Proanthocyanidine wurde ein UHPLC Acquity System von Waters (Milford, MA, USA), bestehend aus einer binären Pumpe, einem kühlbaren Autosampler, einem Säulenofen und einem Triple-Quadrupol-Massenspektrometer mit Electrospray-Interface (Acquity TQD) verwendet. Die Steuerung und Auswertung erfolgte mit Hilfe der Software MassLynx 4.1.

Bedingungen der UHPLC:

Mobile Phase A:	0,1 % Ameisensäure in Wasser
Mobile Phase B:	0,1 % Ameisensäure in Acetonitril
Säule:	Acquity BEH Shield RP18 150*2,0 mm, 1,7 μ (Waters)
Temperatur:	40 °C
Autosamplertemperatur:	10 °C
Flussrate:	0,4 mL/ min
Injektionsvolumen:	2 μ L

Gradientenprogramm UHPLC (35 min.):

0 min., 2% B; 0-28 min., 22% B; 28-29 min., 100% B; 29-31 min., 100% B; 31-33 min., 2% B; 33-35 min., 2% B.

Parameter der Ionisierung und massenspektrometrischen Detektion:

Parameter	
Tuning	Procyanidin A2
Polarität	negativ
Source Type	ESI
Capillary Voltage	- 2,0 kV
Cone Voltage	46 V
Extractor Voltage	2,0 V
RF Voltage	0,20 V
Source Temperature	150 °C
Desolvation Temperature	450 °C
Cone Gas (nitrogen) flow	50 L/ h
Desolvation Gas (nitrogen) flow	800 L/ h

Die Quantifizierung erfolgte im SRM-Modus. Als externer Standard wurden für die Dimere und Trimere Procyanidin A2 und für die Monomere Catechin und Epicatechin verwendet. Die Kalibriergeraden (s. Abbildung 46, S. 127) deckten folgenden Bereich ab:

Procyanidin A2: 0,5-0,7 µg/ mL

Catechin und Epicatechin: 0,125-450 µg/ mL

Zur Herstellung der Procyanidin A2 Kalibriergerade wurden zu einer Blankmatrix die entsprechenden Standardkonzentrationen dotiert. Als Blankmatrix wurde hierfür eine gefriergetrocknete Himbeere verwendet, aus der ein zu den Proben analoges SPE-Eluat hergestellt wurde.

Die Konzentrationen wurden jeweils als mg A2 Äquivalente pro 100 g FG (mg A2 Äq/ 100 g) oder mg/ 100 g FG ausgerechnet. Jede Beere wurde dreimal extrahiert und in Doppelbestimmung gemessen (n = 6).

Die Verdünnung der Epicatechin/ Catechin-Standards wurde mit DMSO vorgenommen.

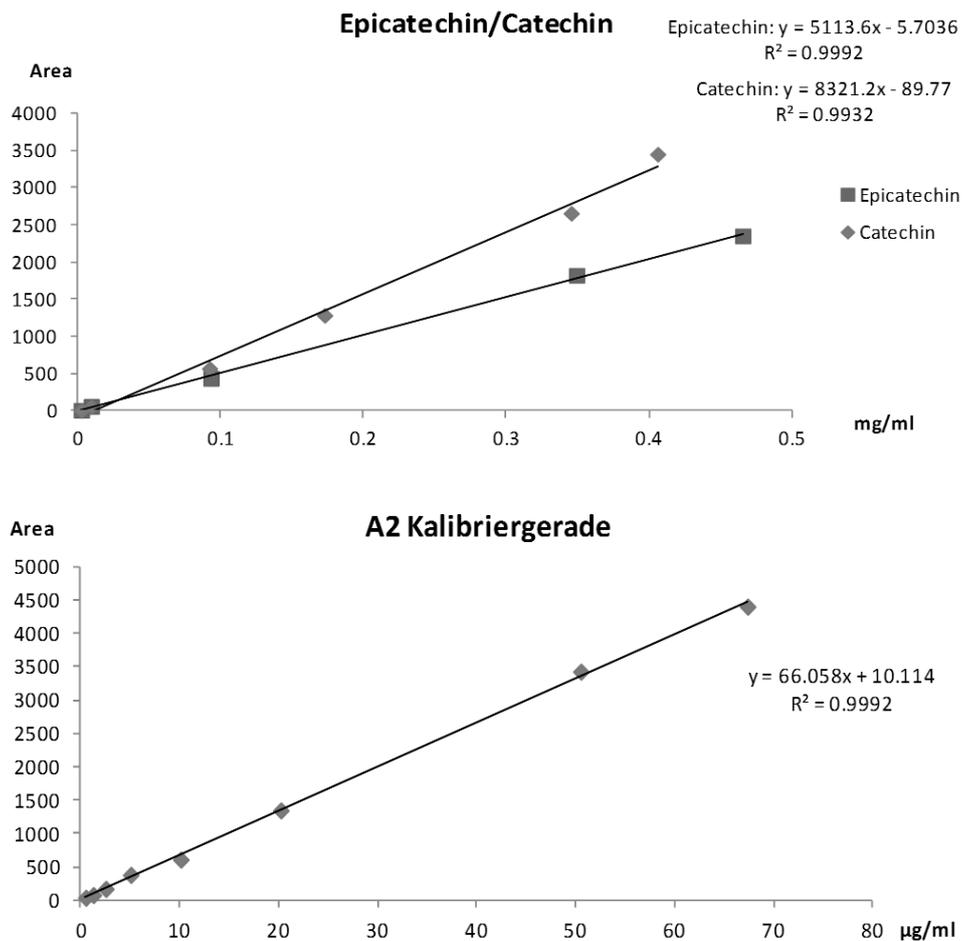


Abbildung 46: Catechin/ Epicatechin- und A2-Kalibriergerade zur Quantifizierung der Procyanidine

3.4.5 Gesamtprocyanidingehalt mittels DMAC-Assay

Der DMAC-Assay wurde nach der Methodenvorschrift von Prior et al. (2010) durchgeführt.

Extraktion der Proanthocyanidine:

Jeweils 0,5 g und 0,25 g der gefriergetrockneten und vermahlenden Beeren wurden in einen 20 ml bzw. 10 ml Messkolben eingewogen und mit dem Extraktionsmittel Aceton/ Wasser/ Essigsäure (70 + 29,5 + 0,5; v + v + v) aufgefüllt. Anschließend wurde 15 min. im Ultraschallbad extrahiert. Für den Assay wurden die Proben 1:10 verdünnt.

Durchführung des Assays:

In eine Küvette wurden 28 µL Probenlösung/ Standard/ Blank, 252 µL Aceton und 840 µL DMAC-Farbreagenz (0,1%) pipettiert und gemischt. Nach 25 Minuten wurde die Absorption der Lösungen in einem Photometer (Varian, Darmstadt) bei 640 nm gemessen.

Die Quantifizierung erfolgte über eine Procyanidin A2 Kalibriergerade im Bereich von 3-40 mg/ L.

A ANHANG

A.1 Übersicht Cranberrysorten

Tabelle 29: Liste kultivierter und benannter Cranberrysorten sowie deren Größe (Cup Count = Größenangabe für Cranberries; Anzahl pro Tasse) (Eck, 1990)

Sorte	Aussehen	Cup Count	Standort/ Ursprung
Anthony			Wisconsin, 1894
Applegate			
Atwood	Schwarz-rote, runde Beere mit einem flachen kelchartig zulaufendem Ende		Massachusetts
Aviator	Schwach gefärbte, mittelgroße Beere, spindelartige Form	76-90	Massachusetts
Bass River	Kleine, dunkelrote Beeren, ovale Form mit quadratisch zulaufendem Ende		Massachusetts
Beach Berry			
Beaver	Größer als Early Black		Kanada, 1956
Beckwith	McFarlin x Early Black, mittelgroße rote Beere	55-60	Wisconsin, New Jersey, Eintrag USDA 1951
Bell and Bugle	Kreuzung zweier nativer Sorten, leuchtend rote Beeren		Wisconsin
Bell and Cherry	Native Sorte, einst Standard-Beere		Wisconsin
Bell of the Cape	Synonym für Centerville		
Belvedere	Große, runde, stark gefärbte Beeren		Michigan, 1904
Benjamin			
Ben Lear	Mittelgroße bis große, dunkelrote, birnenförmige Beere, Anbau in New Jersey und British Columbia	70-90	Wisconsin, 1901
Bennete Jumbo	Mittelgroße, dunkelrote längliche Beeren	76	Wisconsin, 1890
Bergman	Early Black x Searles, große-mittlere birnenförmige Früchte	65-80	New Jersey, Eintrag USDA 1930
Berlin	Mittelgroße rote, runde bis längliche Beeren	88	Wisconsin
Berry Berry	Große, dunkelrote Früchte	55-65	Massachusetts, 1883
Black Diamond	Synonym für Bugle		
Black Veil	Kleine runde Beere mit flachem kelchartig zulaufenden Ende	103-109	Massachusetts, 1890
Bozarthtown			

Pointer			
Braddock Bell	Birnenförmige, kleine bis mittelgroße, dunkelrote Beeren	85-105	New Jersey
Buckalew			
Budds Blues	Kleine, schwarzrote, runde bis ovale Beeren	100-135	New Jersey, 1880
Bugle	Dunkelrote, mittelgroße, spindelförmige Beeren	73-95	Massachusetts, 1875
Bumpus			
Cape Cod Beaty	Kleine, einheitlich große, längliche Früchte		Massachusetts, 1984 Wisconsin
Carver Bell	Große, feste, olivenförmige Beeren		Wisconsin
Carver Red			
Centennial	Runde, mittelgroße Beeren mit gefurchtem kelchartig zulaufenden Ende	47-75	Massachusetts, 1872, New Jersey 1920s
Centerville	Große, mittelrote, ovale Beeren	46-60	Massachusetts, 1882
Champion	Mittelrote, rund-ovale Beeren	72	Massachusetts
Cherry Bell			
Cherry Red			
Chipman	Sehr kleine, dunkelrote, spindelförmige Früchte	110-140	Massachusetts, 1860
Columbia			
Crocker			
Cropper	Runde bis ovale mittelrote relativ kleine Beeren	95-105	New Jersey, 1930
Crowley	McFarli x Proflic, mittelgroße, runde flache Beere		1940
Cumberland			
Dill Eagle			
Ear Drop	Einheitlich mittelgroße glockenförmige Beeren		Wisconsin, 1894
Early Black	Schwarzrote, mittelgroße, glänzende, birnenförmige, reifen sehr früh	90-130	Massachusetts, 1857
Early Ohio	Runde, glänzende, mittelgroße Beere	80-95	Michigan, 1904
Early Red	Große bis mittlere, mittelrote, rund-ovale Beere	67-84	Massachusetts
Early Richard	Große bis mittelgroße, sehr dunkle, annähernd runde Beeren	67-84	New Jersey, 1970
Excelsior			
Foxboro Howes	Kleine, mittelrote, glänzende länglich-ovale Früchte	100-110	Massachusetts, 1932
Franklin	Early Black x Howes, große bis mittelgroße, runde, rot bis dunkelrote Beere	57-90	New Jersey 1930, Massachusetts, Eintrag USDA 1961
Garwood Bell	mittelgroße, glänzende, dunkelrote spindelförmige Beere		New Jersey 1875
Gebhardt Beaty	mittlere, glänzende, dunkelrote runde Beeren mit flach zulaufenden kelchförmigen Enden		Wisconsin, 1893
Gifford			

Godfrey			
Hall			
Hardy Howes			
Harlow			
Harwich			
Hawthorne			
Henry Griffith			
Hewitt Berry	Kleine, runde, feste Beeren		Wisconsin, 1984, Massachusetts
Hockanum			
Holliston	Große, runde, längliche Beeren	54-75	Massachusetts, 1885
Horseneck			
Howard Bell	Große, mittelrote, oval bis spindelförmige Beeren		New Jersey, 1875 (aus nativer Frucht)
Howes	Mittlere bis kleine, frostresistente, glänzende, mittelrote, oval bis längliche Beere, hoher Pektingehalt (geeignet zum Einmachen)	80-140	Massachusetts, 1843
Howland			
Improved Howes	Große bis mittelgroße, glänzende, mittelrote, birnenförmige Beeren	75-82	Massachusetts, 1890
Indian Head			
Jerseys	Variabel in Größe, Form und Farbe		Wilde Beeren, New Jersey
Juneau	Kleine, dunkelrote, oval bis längliche Früchte	100	Wisconsin, 1893
Keystone	Kleine, glockenförmige Beeren		Massachusetts, Wisconsin, 1893
Klondike			
Late Cape			
Late Jersey			
Late Reds			
LeMunyon			
Leonard Robbins			
Mammoth	Evtl. die selbe wie Howes, aber anderer Standort		

A.2 Test verschiedener HPLC-Säulen

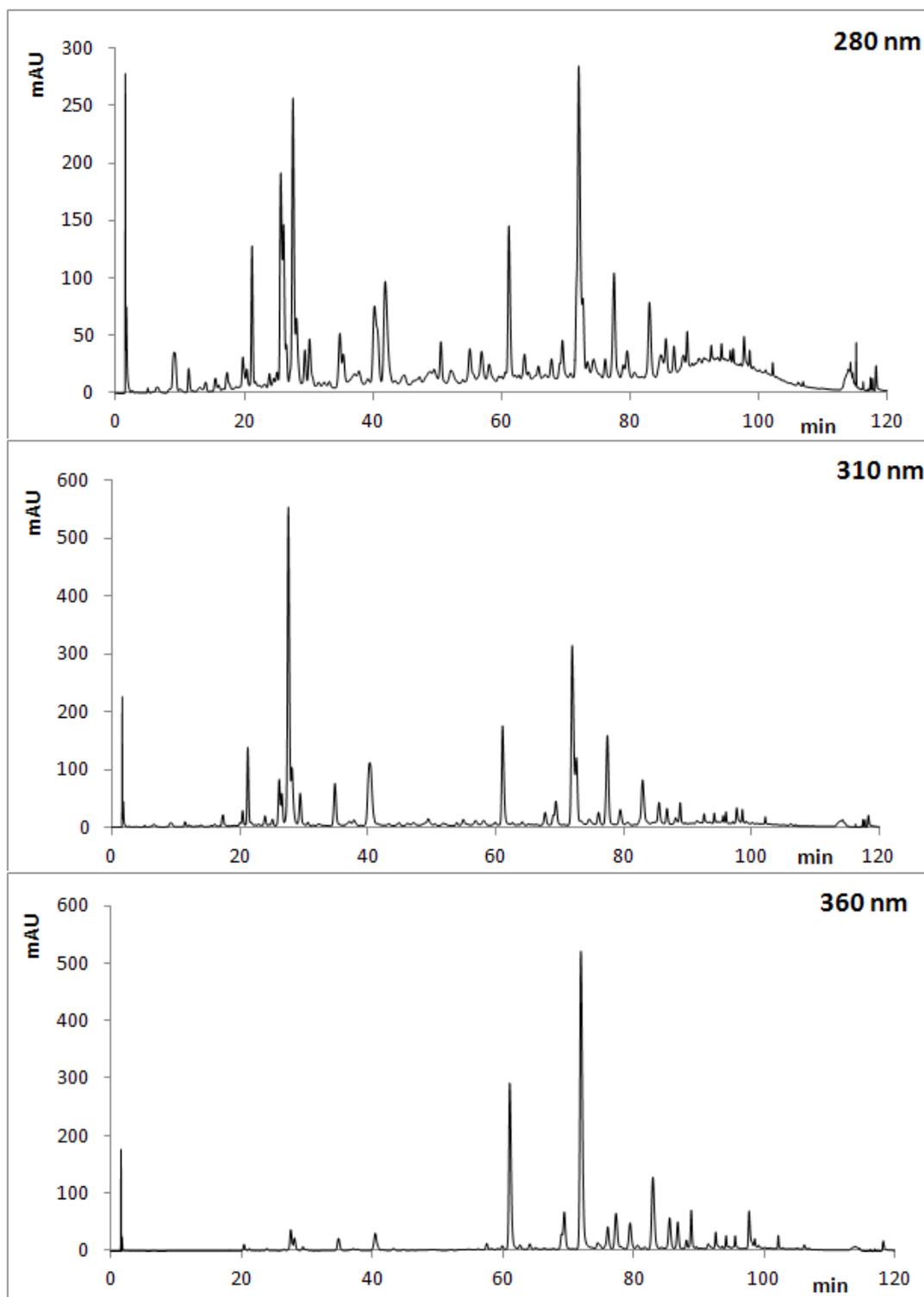


Abbildung 47: Chromatogramm eines SPE-Eluates der Cranberrysorte Pilgrim analysiert auf einer Aqua-Säule

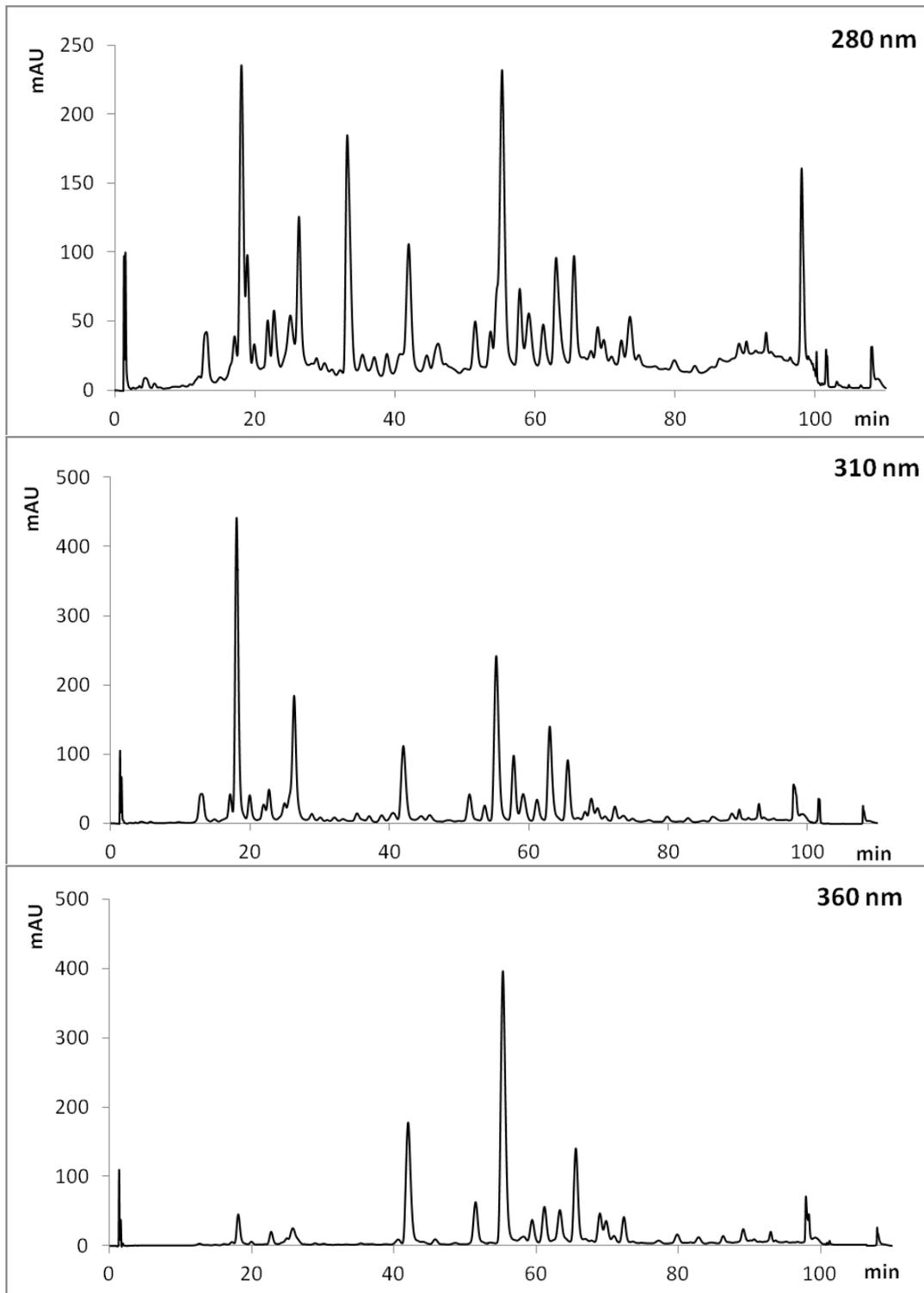


Abbildung 48: Chromatogramm eines SPE-Eluates der Cranberrysorte Pilgrim analysiert auf einer Isis-Säule

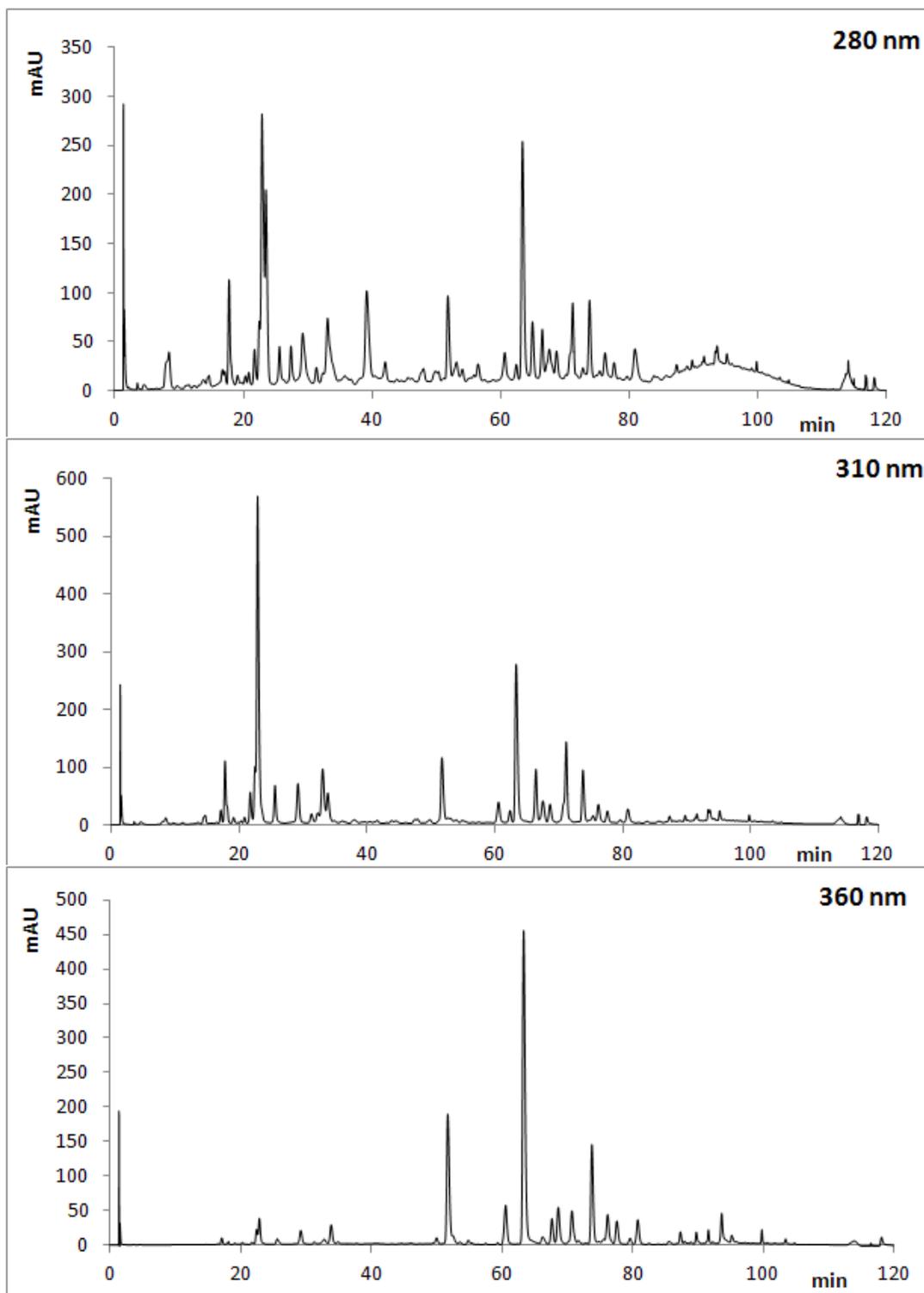


Abbildung 49: Chromatogramm eines SPE-Eluates der Cranberrysorte Pilgrim analysiert auf einer Zorbax-Säule

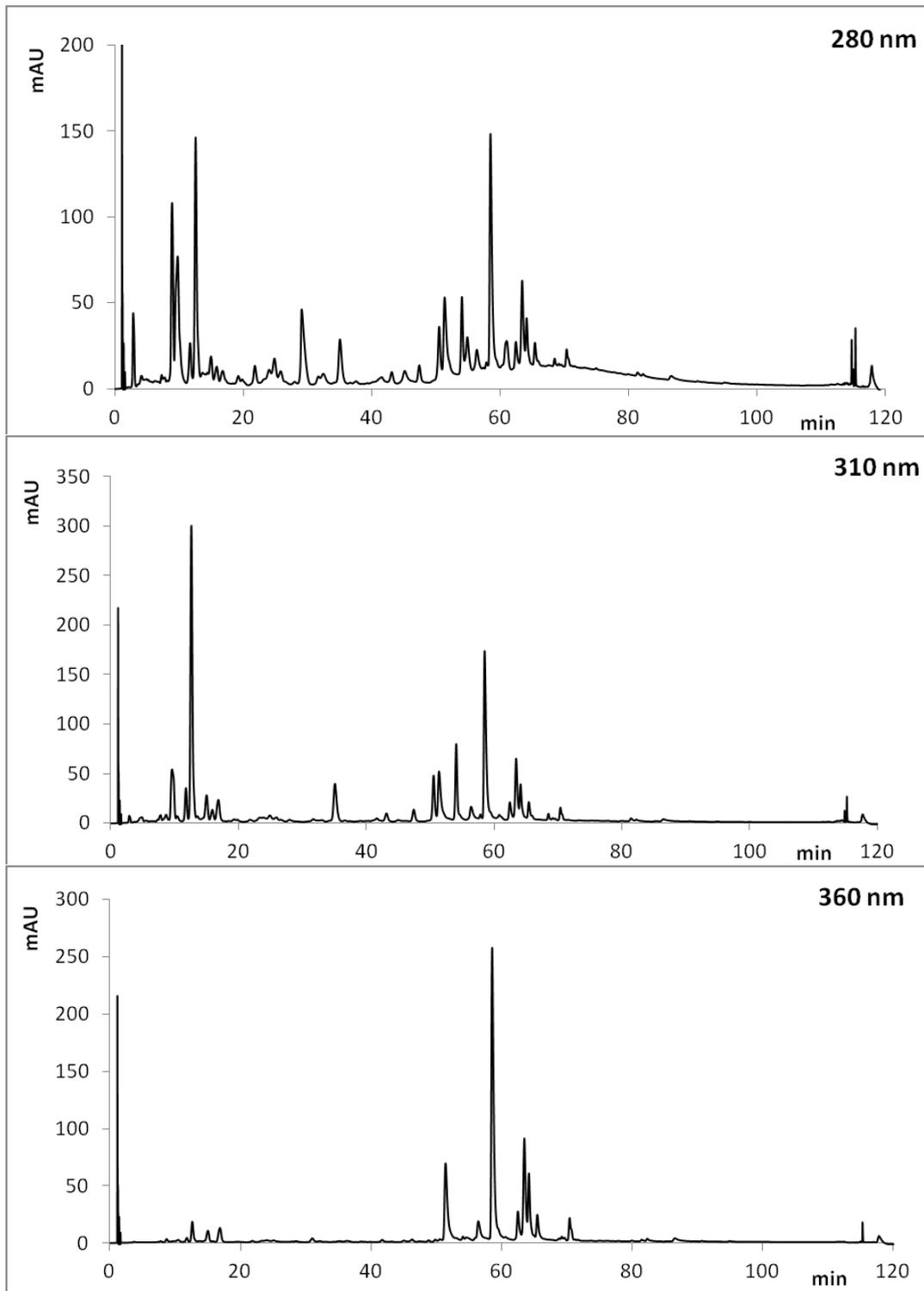
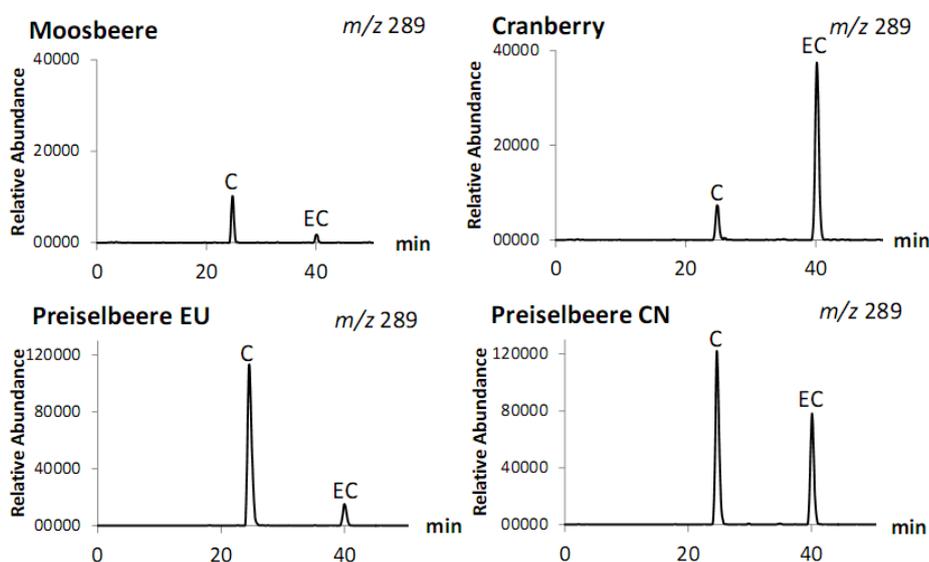


Abbildung 50: Chromatogramm eines SPE-Eluates der Cranberrysorte Pilgrim analysiert auf einer Polartec-Säule

A.3 Massenspuren verschiedener Proanthocyanidine

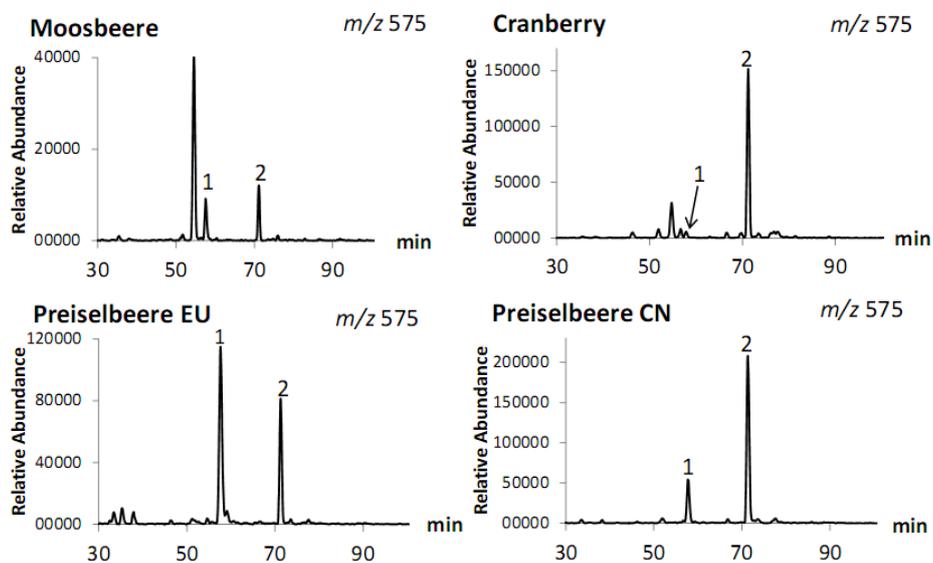
Die Abbildungen und Tabellen beziehen sich auf den Abschnitt 2.3.1.2 Proanthocyanidinprofile von Cranberry, Moosbeere und Preiselbeere. Die Abbildungen zeigen die Massenspuren der unterschiedlichen Verbindungen. Die zugeordneten Peaks tragen jeweils eine Numerierung. In der dazugehörigen Tabelle ist die Fragmentierung der Verbindungen aufgezeigt und das Vorkommen in den *Vaccinium*-Spezies.

A.3.1 Monomere Flavan-3-ole



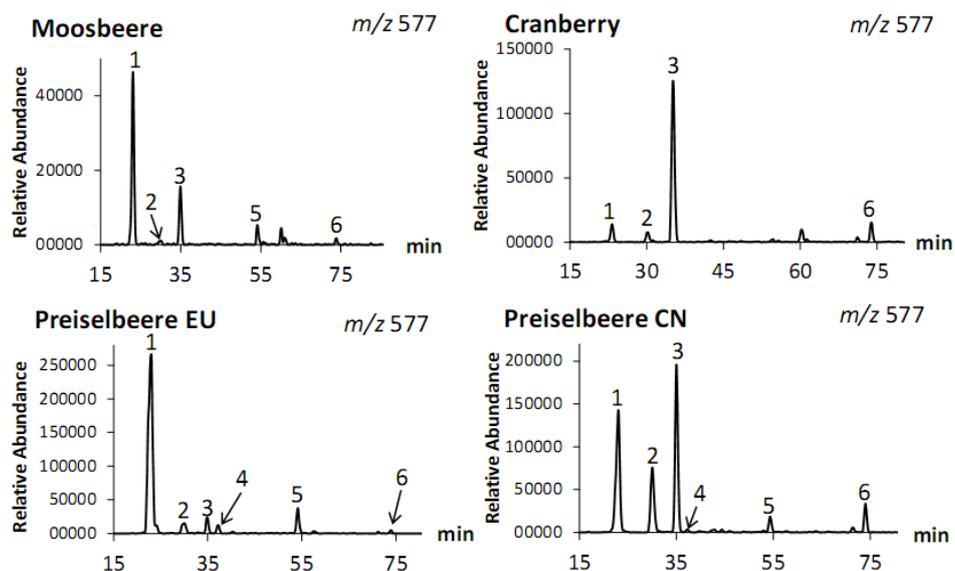
Peak	RT [min]	[M-H] ⁻	Fragmente	CB	MB	PB	
						EU	CN
Catechin (C)	24,89	289	MS ² :245, 205, 179, 271, 161 MS ³ [289–245]: 203, 227, 245, 187,161	X	X	X	X
Epicatechin (EC)	40,32	289	MS ² : 245, 205, 179, 271, 161 MS ³ [289–245]: 203, 227, 245, 187,161	X	X	X	X

A.3.2 A-Typ-Dimere



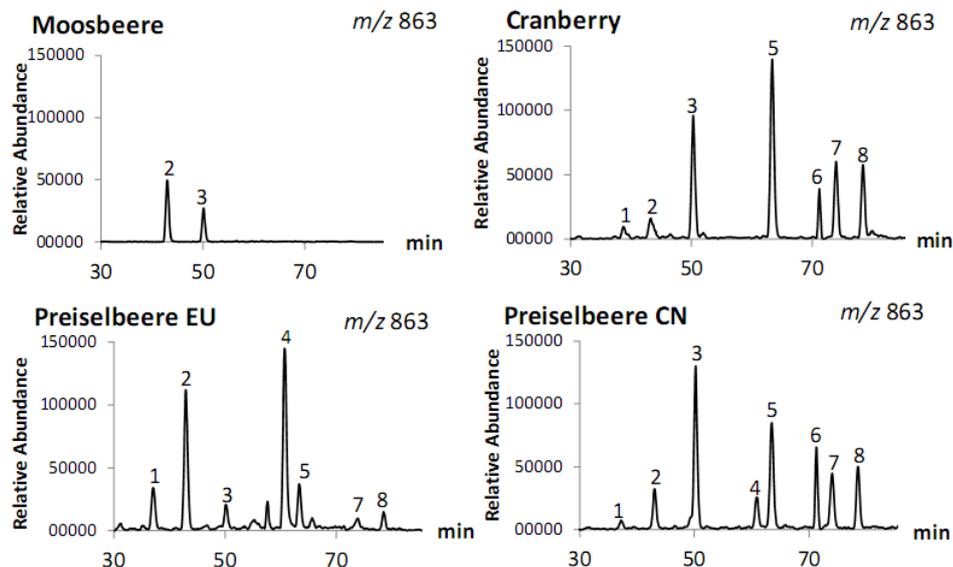
Peak Nr.	RT [min]	[M-H] ⁻	Fragmente	CB	MB	PB	
						(EU)	(CN)
1	57,85	575	MS ² :449, 539, 423, 289, 285, 407 MS ³ [575-449]: 287, 341, 289	X	X	X	X
2 (A2)	71,24	575	MS ² : 423, 449, 539, 407, 289, 485 MS ³ [575-423]: 285, 313, 405	X	X	X	X

A.3.3 B-Typ-Dimere



Peak Nr.	RT [min]	[M-H] ⁻	Fragmente	CB	MB	PB	
						(EU)	(CN)
1 (B1)	23,01	577	MS ² : 425, 407, 451, 289, 559, 287 MS ³ [577-425]: 407, 381, 298	X	X	X	X
2	30,05	577	MS ² : 425, 407, 451, 289, 559 MS ³ [577-425]: 407, 381, 273	X	X	X	X
2 (B2)	35,01	577	MS ² : 425, 407, 451, 289, 559 MS ³ [577-425]: 407, 273, 381	X	X	X	X
4	37,18	577	MS ² : 425, 407, 451, 289, 559 MS ³ [577-425]: 407, 273, 381			X	X
5	54,16	577	MS ² : 425, 407, 451, 289, 559 MS ³ [577-425]: 407, 273, 381		X	X	X
6 (B5)	73,96	577	MS ² : 425, 407, 451, 289, 559 MS ³ [577-425]: 407, 273, 381	X	X	X	X

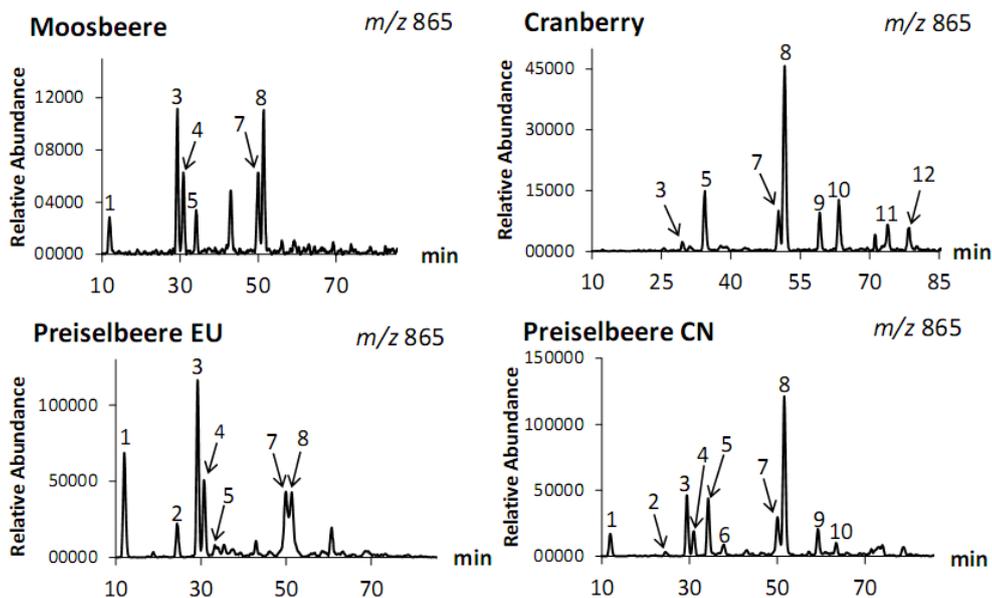
A.3.4 Trimere mit einer A-Typ-Verknüpfung



Peak Nr.	RT [min]	[M-H] ⁻	Fragmente	CB	MB	PB	
						(EU)	(CN)
1 ^b	37.02	863	MS ² : 575, 711, 693, 559, 737, 449 MS ³ [863-575]: 449, 423, 289, 287, 407; [863-711]: 693	X		X	X
2 ^a	42.87	863	MS ² : 711, 451, 573, 411, 693, 531, 289 MS ³ [863-711]: 693, 559, 541, 407	X	X	X	X
3 ^a	50.09	863	MS ² : 711, 573, 451, 411, 531, 693, 289 MS ³ [863-711]: 693, 559, 407	X	X	X	X
4 ^b	60.63	863	MS ² : 575, 711, 693, 737, 845, 287 MS ³ [863-575]: 449, 423, 539; [863-711]: 693, 559, 541, 407			X	X
5 ^b	63.29	863	MS ² : 575, 711, 693, 737, 559 MS ³ [863-711]: 693, 559; [863-575]: 449	X		X	X
6 ^b	71.25	863	MS ² : 575, 594, 693, 586, 731, 423 -	X			X
7 ^b	73.85	863	MS ² : 575, 711, 737, 693 MS ³ [863-711]: 693; [863-575]: 449, 539	X		X	X
8 ^b	78.43	863	MS ² : 575, 711, 693, 737 MS ³ [863-575]: 449, 289, 287, 452; [863-711]: 693	X		X	X

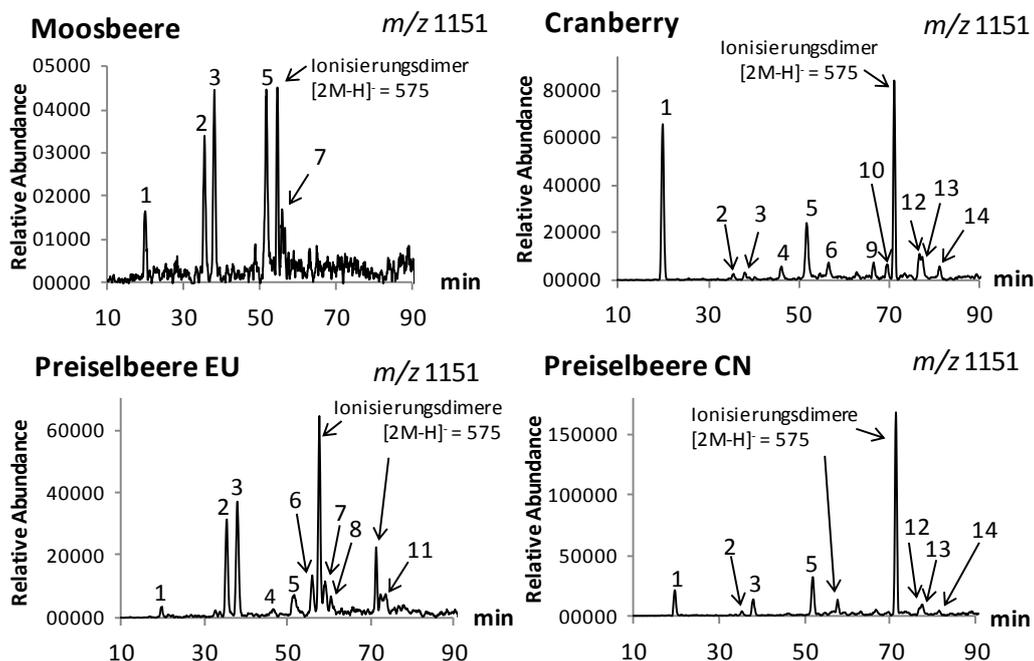
^aVerknüpfung: (Epi)cat-A-(Epi)cat-(Epi)cat; ^bVerknüpfung: (Epi)cat-Epi)cat-A-(Epi)cat

A.3.5 B-Typ-verknüpfte Trimere



Peak Nr.	RT [min]	[M-H] ⁻	Fragmente	CB	MB	PB	
						EU	CN
1	11,93	865	MS ² : 695, 713, 575, 577, 739, 425, 287 MS ³ [865–695]: 543, 405, 363, 451, 677, 243, 289		X	X	X
2	24,45	865	MS ² : 695, 739, 713, 577, 575, 449, 407, 289 MS ³ [865–695]: 543, 525, 677, 405, 289			X	X
3	29,41	865	MS ² : 695, 739, 577, 575, 711, 587, 425, 287 MS ³ [865–695]: 543, 451, 405, 363, 677, 289, 243	X	X	X	X
4	30,71	865	MS ² : 695, 739, 711, 577, 575, 847, 407, 451, 287 MS ³ [865–695]: 543, 577, 525, 243, 407, 405, 289, 451		X	X	X
5	34,37	865	MS ² : 695, 739, 577, 711, 587, 847, 407, 451, 287 MS ³ [865–695]: 543, 677, 451, 363, 405, 289	X	X	X	X
6	37,84	865	MS ² : 695, 713, 577, 575, 739, 413, 287 MS ³ [865–695]: 543, 677, 243, 405, 451, 289, 525, 586				X
7	50,05	865	MS ² : 695, 713, 739, 577, 575, 587, 451, 407, 287 MS ³ [865–695]: 543, 407, 405, 243, 451, 525, 289, 677, 363	X	X	X	X
8 (C1)	51,59	865	MS ² : 695, 739, 713, 577, 575, 587, 451, 407, 847, 287 MS ³ [865–695]: 543, 525, 677, 405, 451, 243, 289	X	X	X	X
9	59,24	865	MS ² : 695, 739, 713, 577, 575, 587, 847, 451, 425, 407, 287 MS ³ [865–695]: 543, 677, 525, 451, 363, 243, 525	X			X
10	63,42	865	MS ² : 576, 577, 712, 695, 739, 297, 779, 847 MS ³ [865–712]: 694, 695; [865–577]: 449, 539, 407, 533, 288; [865–575]: 539, 449, 514, 423	X			X
11	73,80	865	MS ² : 576, 577, 738, 712, 695, 846, 438	X			
12	78,55	865	MS ² : 577, 575, 713, 695, 739, 847, 451 MS ³ [865–577]: 328, 286, 450, 438, 540; [865–713]: 695, 559	X			

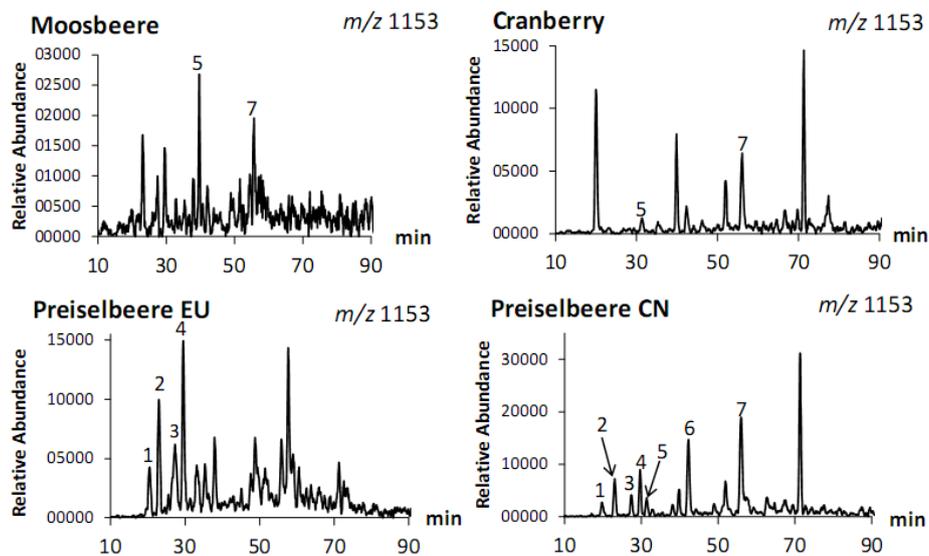
A.3.6 A-Typ-verknüpfte Tetramere



Peak Nr.	RT [min]	[M-H] ⁻	Fragmente	CB	MB	PB	
						EU	CN
1 ^a	20,02	1151	MS ² : 863, 999, 711, 1026, 573, 531, 451 MS ³ [1151-863]: 711, 451, 573, 411, 531, 693, 289	X	X	X	X
2 ^a	35,38	1151	MS ² : 863, 999, 711, 1026, 573, 531, 451 MS ³ [1151-863]: 711, 451, 573, 411, 531, 693, 289	X	X	X	X
3 ^b	37,88	1151	MS ² : 861, 739, 999, 981, 577, 587, 407 MS ³ [1151-861]: 709, 573, 449, 699, 691, 411	X	X	X	X
4 ^a	46,28	1151	MS ² : 863, 999, 981, 1025, 573, 699 MS ³ [1151-863]: 711, 451, 693, 411, 753, 559	X		X	
5 ^b	51,84	1151	MS ² : 861, 739, 999, 981, 577, 587, 407, 1025 MS ³ [1151-861]: 709, 699, 573, 449, 411, 405, 735	X	X	X	X
6 ^a	56,75	1151	MS ² : 863, 981, 999, 1025, 573, 711, 735 MS ³ [1151-863]: 711, 451, 411, 574, 693			X	
7 ^c	58,99	1151	MS ² : 863, 981, 999, 1025, 575, 711, 873 MS ³ [1151-863]: 711, 575, 737, 693, 446, 531		X	X	
8 ^c	60,41	1151	MS ² : 575, 863, 999, 1025, 981, 1133, 873, 737 MS ³ [1151-999]: 963, 547, 981, 735, 711, 589			X	
9 ^c	66,70	1151	MS ² : 575, 999, 1025, 863, 981, 1075, 873 MS ³ [1151-575]: 449, 423, 413, 465, 539, 287	X			
10 ^c	69,67	1151	MS ² : 981, 1025, 863, 575, 905, 1065, 709, 411 MS ³ [1151-981]: 693, 811	X			
11 ^c	73,53	1151	MS ² : 575, 1025, 999, 863, 981, 737, 711 MS ³ [1151-575]: 449, 539, 327, 287, 531			X	
12 ^c	76,89	1151	MS ² : 863, 981, 999, 1025, 711, 575, 737 MS ³ [1151-863]: 575, 693, 711, 585, 737	X			X
13 ^c	77,44	1151	MS ² : 575, 999, 863, 1025, 981, 1133, 711 MS ³ [1151-863]: 575, 373, 406, 845	X			X
14 ^c	81,27	1151	MS ² : 575, 863, 1025, 999, 981, 737, 1065, 423 MS ³ [1151-575]: 449, 289, 411, 539, 453	X			X

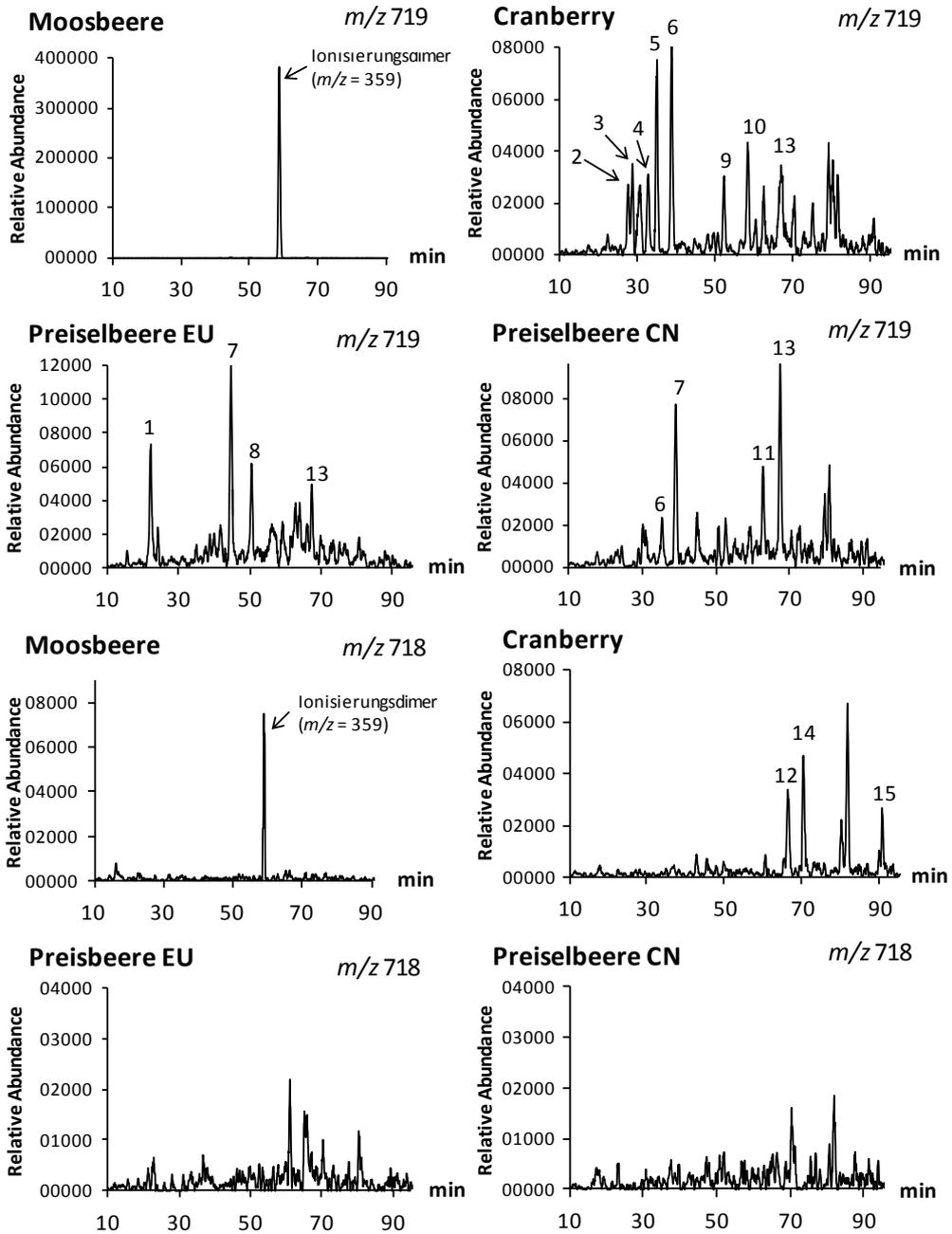
^aVerknüpfung: (Epi)cat-A-(Epi)cat-(Epi)cat-(Epi)cat; ^bVerknüpfung: (Epi)cat-(Epi)cat-A-(Epi)cat-(Epi)cat;
^cVerknüpfung: (Epi)cat-(Epi)cat-(Epi)cat-A-(Epi)cat

A.3.7 B-Typ-verknüpfte Tetramere



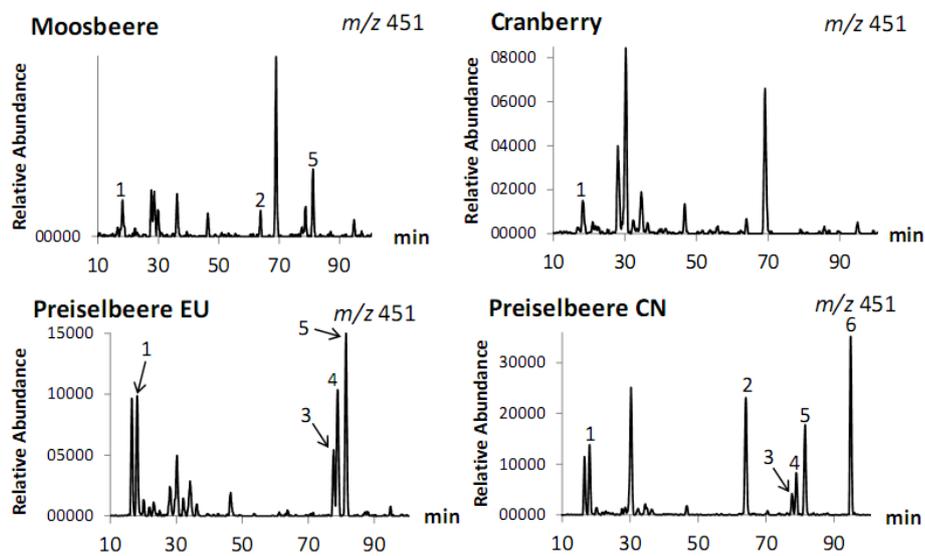
Peak Nr.	RT [min]	[M-H] ⁻	Fragmente	CB	MB	PB	
						(EU)	(CN)
1	20,47	1153	MS ² : 983, 1027, 1001, 865, 575, 701, 907, 1135 MS ³ [1153-983]: 813, 831, 693, 965, 651, 449, 407			X	X
2	22,91	1153	MS ² : 1028, 984, 864, 577, 1135, 740, 908 MS ³ [1153-1028]: 865, 576, 740			X	X
3	27,35	1153	MS ² : 863, 983, 1027, 1001, 577, 701, 739, 695 MS ³ [1153-863]: 575, 567, 695, 737, 449, 287			X	X
4	29,47	1153	MS ² : 865, 983, 1027, 575, 1135, 1001, 739 MS ³ [1153-983]: 814, 831, 693, 965, 365, 611, 739			X	X
5	31,29	1153	MS ² : 863, 983, 865, 1027, 1162, 413, 575, 577 MS ³ [1153-983]:-	X	X		X
6	42,31	1153	MS ² : 1027, 983, 863, 575, 739, 1001, 1135 MS ³ [1153-1027]: 577, 423, 739, 901, 865				X
7	55,98	1153	MS ² : 1027, 865, 983, 863, 575, 739, 1001, 1135, 701, 907 MS ³ [1153-865]: 695, 577, 451, 739, 845; [1153-1027]: 737, 875, 1009, 865, 449, 857	X	X		X

A.3.8 Pentamere mit einer und zwei A-Typ-Verknüpfung



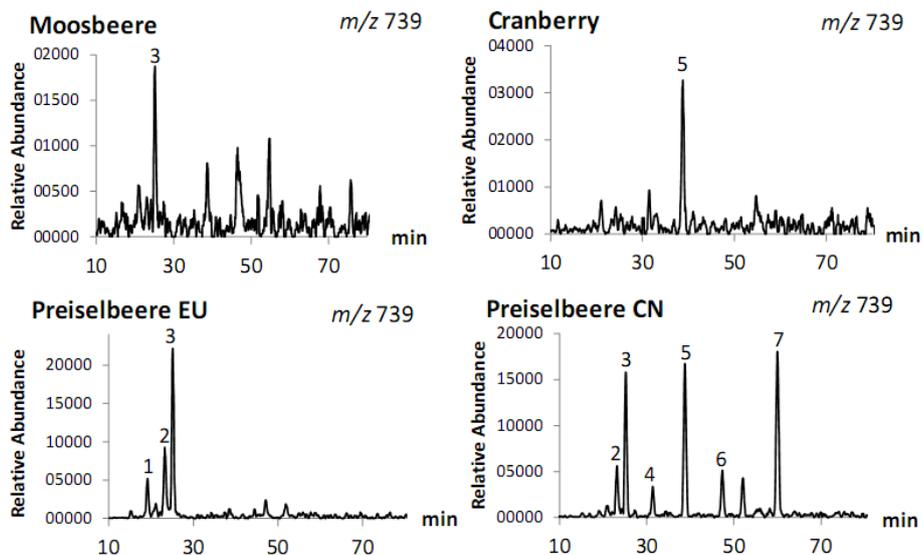
Peak Nr.	RT [min]	[M-H] ⁻ / [M-H] ²⁻	Fragmente	CB	MB	PB	
						EU	CN
1	22,11	1439/ 719	MS ² : 1151, 861, 1313, 1269, 739, 573, 963 MS ³ [1439–1151]: 577, 999, 861, 709, 739			X	
2	27,69	1439/ 719	Keine Fragmentierung von $m/z = 1439$ lediglich MS ² [719]: 643, 634, 559, 491, 287	X			
3	28,83	1439/ 719	MS ² : 1151, 861, 709, 1287, 573, 1023, 449, 1313 MS ³ [1439–1151]: 447	X			
4	32,83	1439/ 719	Keine Fragmentierung von $m/z = 1439$ lediglich MS ² [719]: 719: 634, 643, 558, 657, 451	X			
5	35,14	1439/ 719	Keine Fragmentierung von $m/z = 1439$ lediglich MS ² [719]: 643, 575, 635, 656, 558, 289	X			
6	38,85	1439/ 719	Keine Fragmentierung von $m/z = 1439$ lediglich MS ² [719]: 575, 634, 549, 449, 287	X			X
7	44,57	1439/ 719	MS ² : 861, 1149, 1269, 1027, 987, 699, 577 MS ³ [1439–861]: 709, 431			X	X
8	50,33	1439/ 719	Keine Fragmentierung von $m/z = 1439$ lediglich MS ² [719]: 643, 634, 577, 289, 411			X	
9	52,42	1439/ 719	Keine Fragmentierung von $m/z = 1439$ lediglich MS ² [719]: 634, 643, 521, 289, 559, 658	X			
10	58,50	1439/ 719	Keine Fragmentierung von $m/z = 1439$ lediglich MS ² [719]: 643, 635, 558, 656, 492	X			
11	62,60	1439/ 719	Keine Fragmentierung von $m/z = 1439$ lediglich MS ² [719]: 643, 575, 634, 411, 289, 559				
12	66,37	1437/ 718	MS ² : 861, 1285, 1025, 1267, 1446, 529 MS ³ [1437–861]: 573	X			
13	67,27	1439/ 719	MS ² : 987, 861, 575, 1027, 1269, 1149, 1287, 1421, 907 MS ³ [1151–987]: -	X		X	X
14	70,37	1437/ 718	MS ² : 861, 1285, 1025, 1267, 529 MS ³ [1437–861]: 573	X			
15	90,70	1437/ 718	MS ² : 1025, 575, 1146, 1285, 861, 531, 429 -	X			

A.3.9 Cinchonain I-Isomere und Flavanolglykoside



Peak Nr.	RT [min]	[M-H] ⁻	Fragmente	CB	MB	PB	
						EU	CN
1 (Epi)catechinhexosid	18,10	451	MS ² : 289 MS ³ [451→289]: 245, 205, 179, 161	X	X	X	X
2	30,25	451	MS ² : 341, 289, 217, 189 MS ³ [451→341]: 217, 323, 297, 177				X
3	77,72	451	MS ² : 341, 289, 177, 287 MS ³ [451→341]: 297, 282, 231, 317, 189		X	X	X
4	78,90	451	MS ² : 341, 289, 217, 177 MS ³ [451→341]: 217, 231, 297, 323, 177			X	X
5	81,51	451	MS ² : 341, 217, 189 MS ³ [451→341]: 217, 231, 297, 323, 189		X	X	X
6	94,86	451	MS ² : 341 MS ³ [451→341]: 217, 231, 297, 323, 177				X

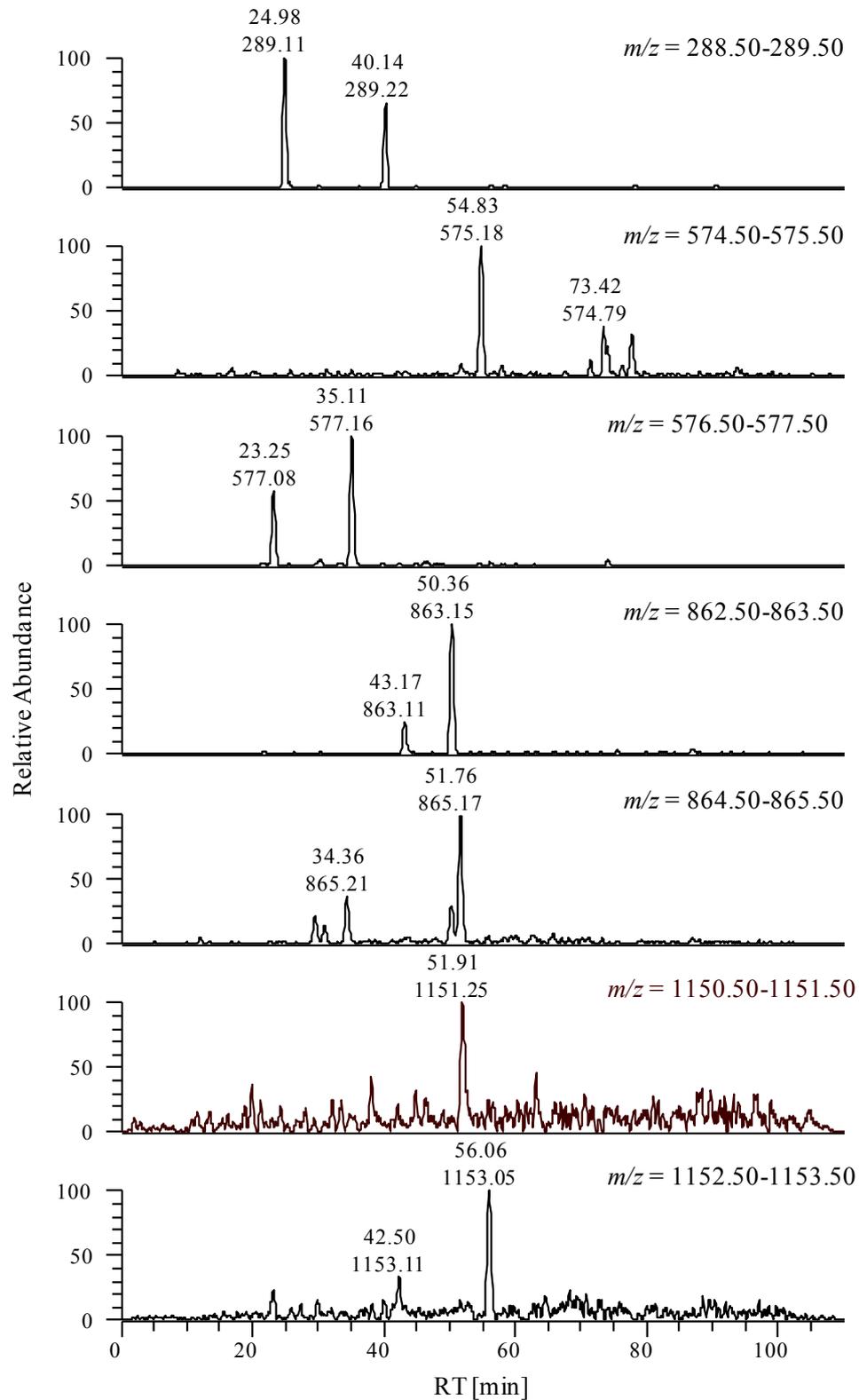
A.3.10 Cinchonain II-Isomere und Flavanolglykoside



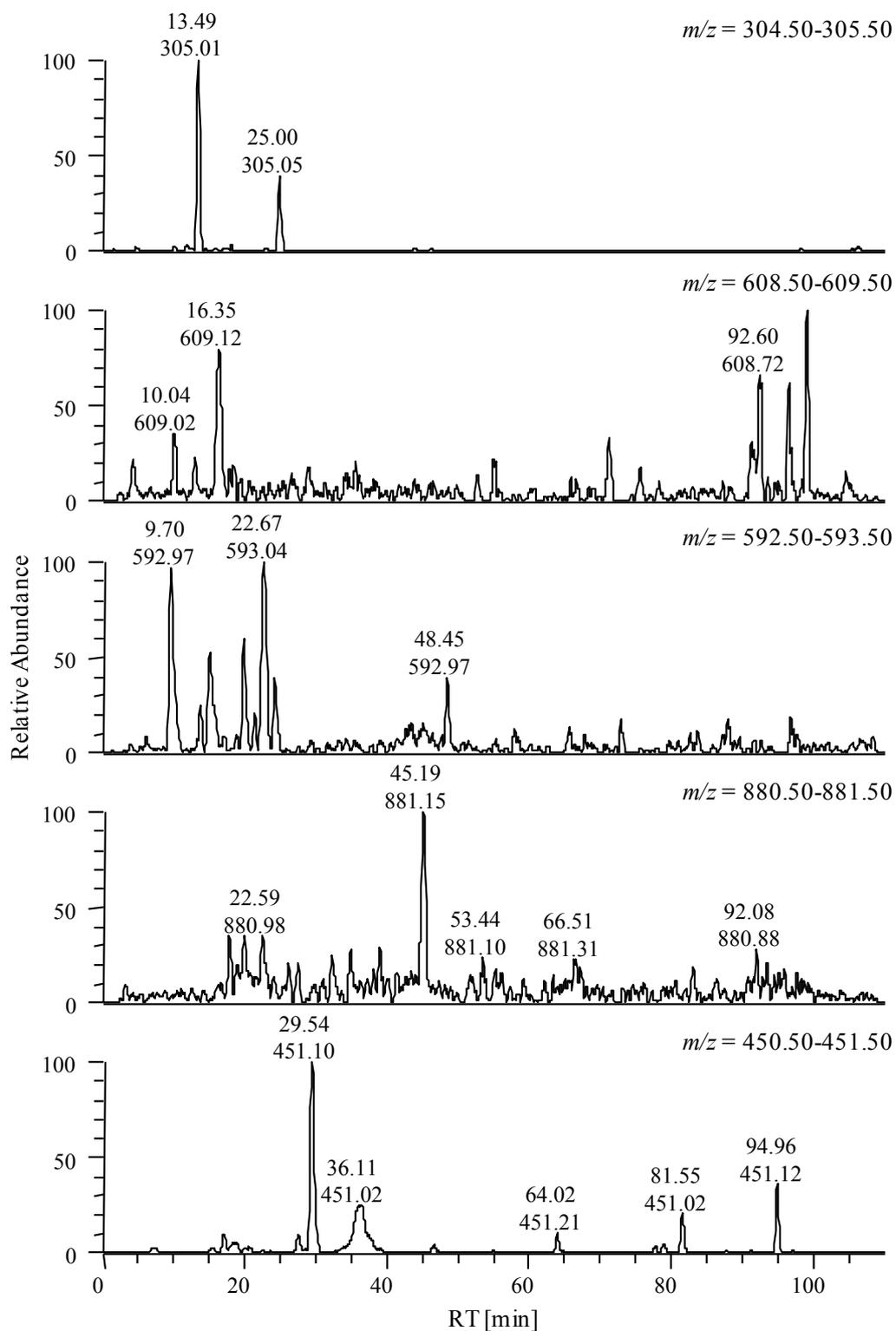
Peak Nr.	RT [min]	[M-H] ⁻	Fragmente	CB	MB	PB	
						EU	CN
1	19,18	739	MS ² : 619, 649, 587, 449, 467, 329, 721, 289 MS ³ [739-619]: 467, 451, 329, 289			X	
2	22,23	739	MS ² : 619, 649, 587, 449, 407, 451, 721, 577, 467, 329, 289 MS ³ [739-619]: 467, 289, 451, 393, 493, 225			X	X
3	25,19	739	MS ² : 649, 619, 587, 449, 497, 359, 721, 289 MS ³ [739-649]: 497, 451, 479, 359, 631, 341, 409		X	X	X
4	31,40	739	MS ² : 619, 587, 649, 539, 679, 407, 449 MS ³ [739-619]: 451				X
5	38,74	739	MS ² : 649, 619, 587, 449, 721, 359, 497, 289 MS ³ [739-649]: 497, 359, 289, 451, 539	X			X
6 (Cinchonain)	47,34	739	MS ² : 587, 435, 449, 451, 569, 339, 289, 629, 721 MS ³ [739-587]: 435, 569, 417, 459, 405, 339				X
7 (Cinchonain)	59,99	739	MS ² : 587, 435, 449, 451, 339, 289, 569, 629, 721 MS ³ [739-587]: 435, 569, 417, 339, 459, 542				X

Massenspuren der in Heidelbeeren und Blaubeeren detektierten Proanthocyanidine

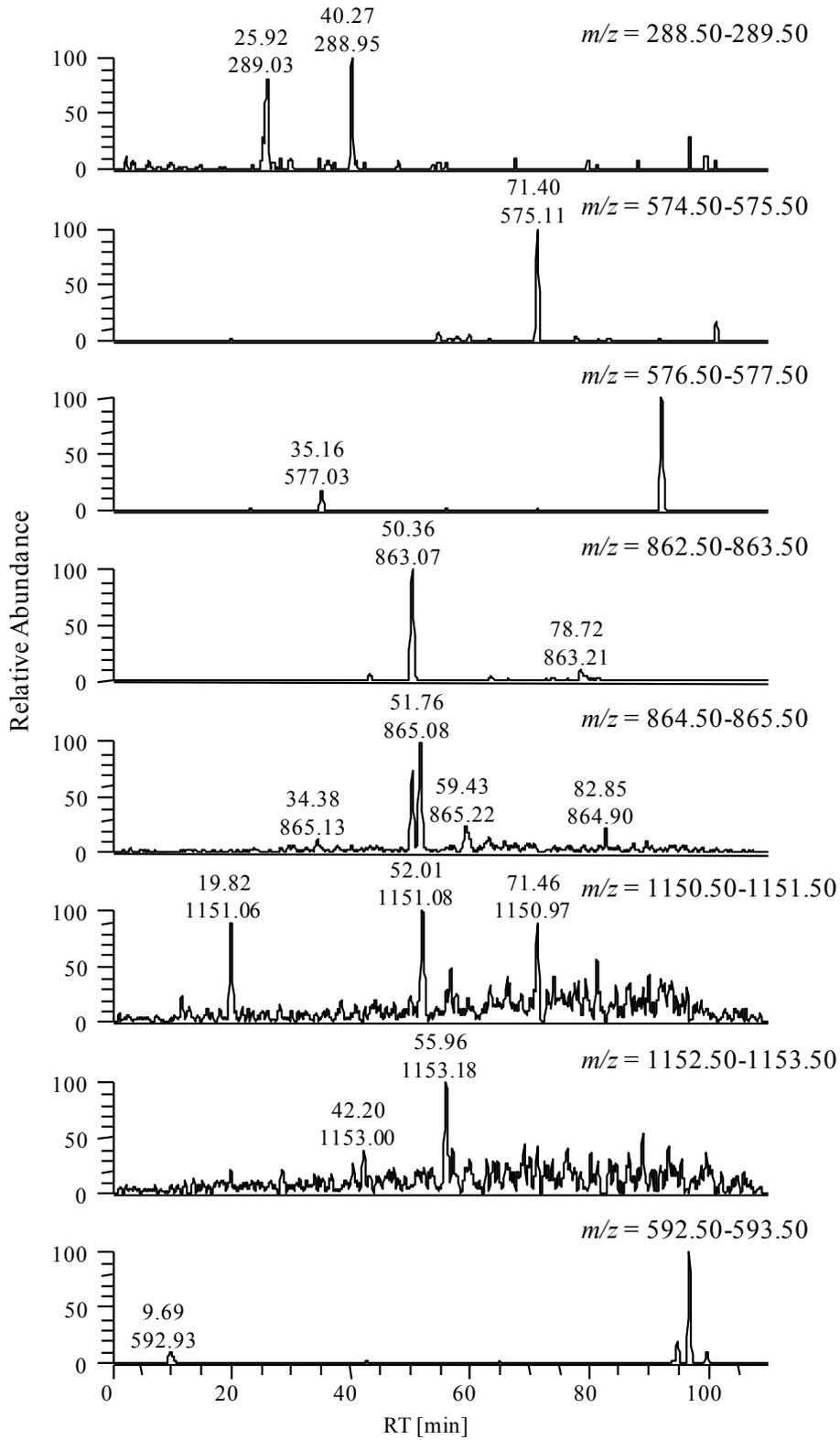
- *Vaccinium myrtillus*: Procyanidine



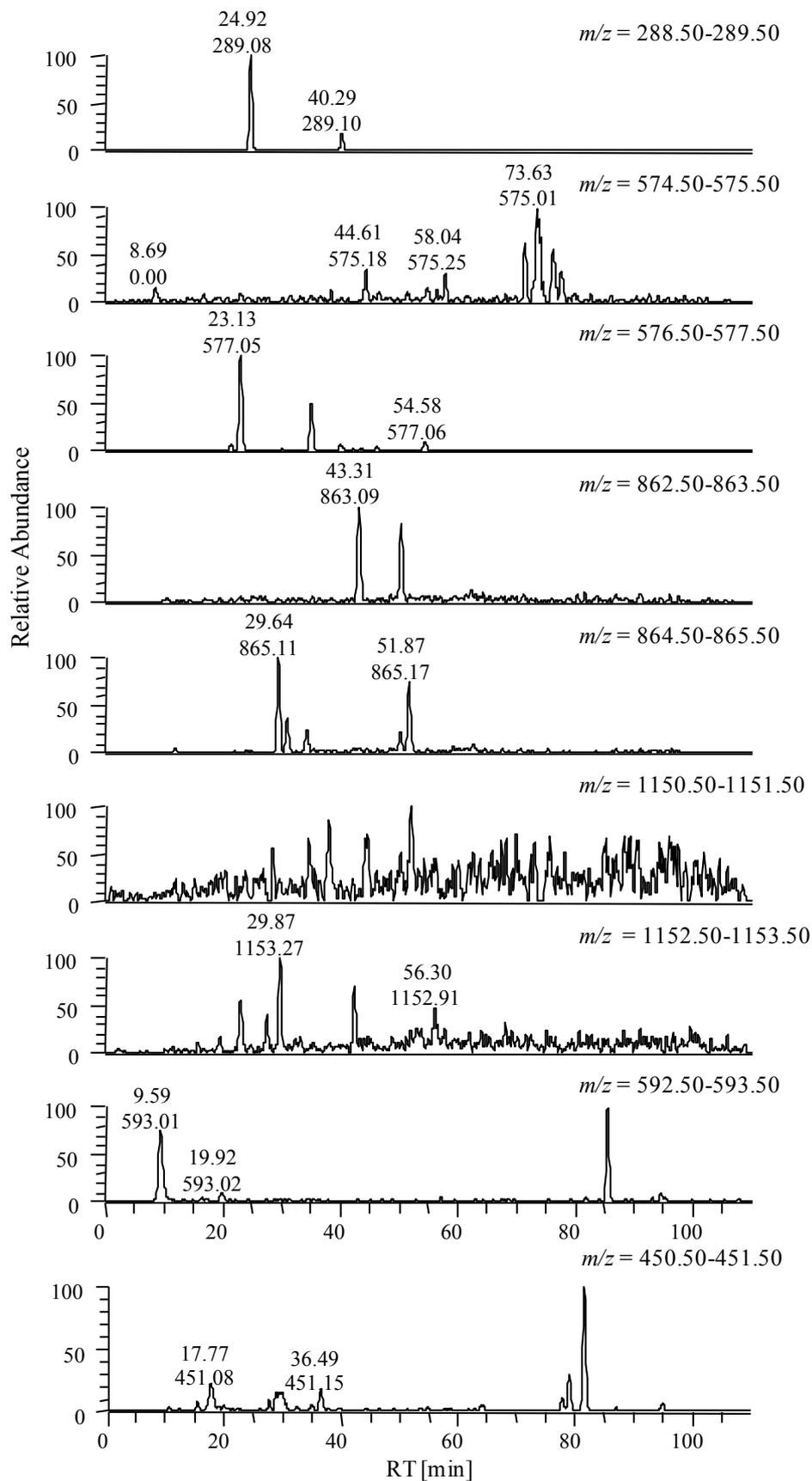
- *Vaccinium myrtillus*: Prodelphinidine, Cinchonaine/Flavanolglykoside



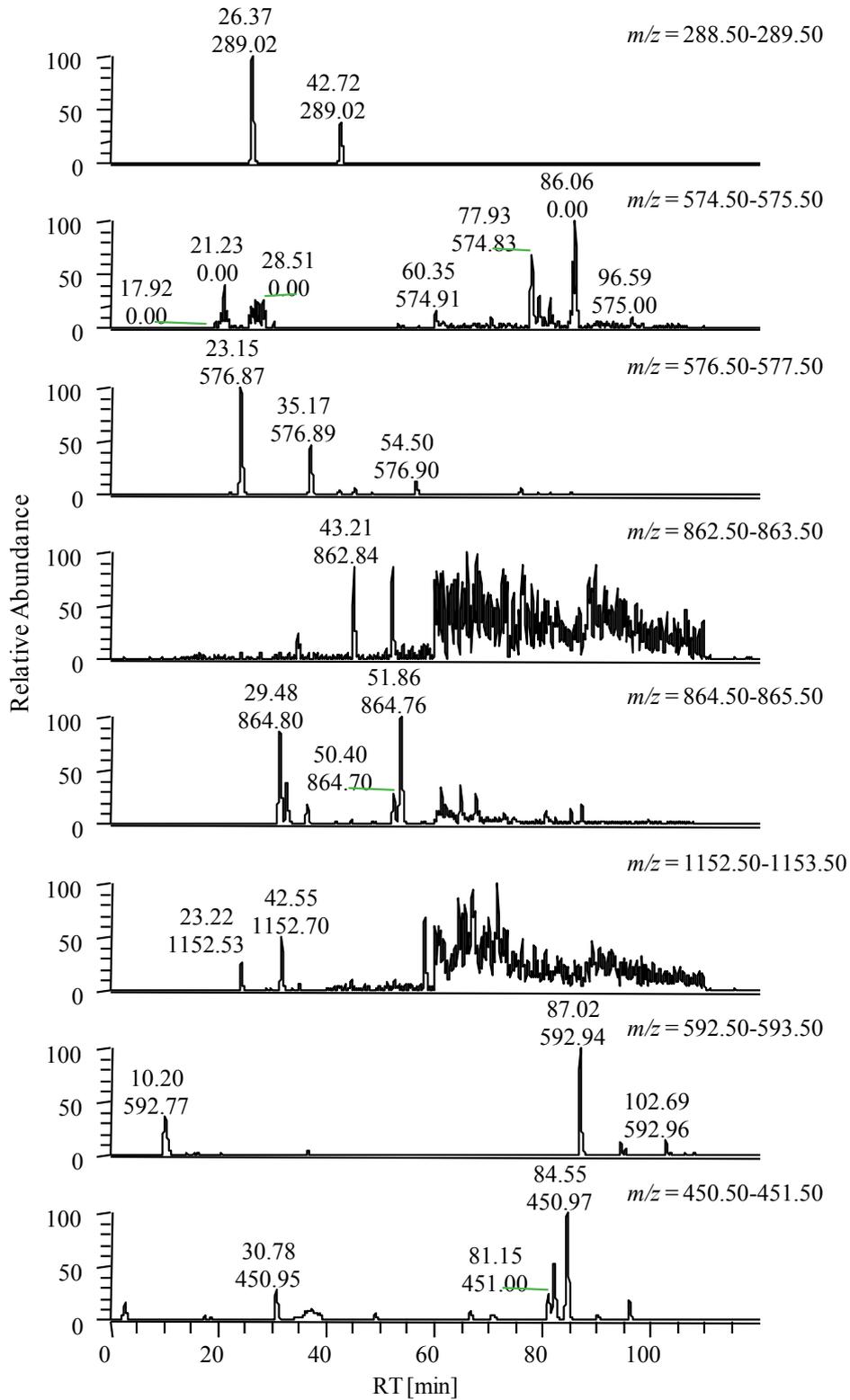
- *Vaccinium floribundum*: Proanthocyanidine



- *Vaccinium angustifolium*: Proanthocyanidine



- *Vaccinium corymbosum*: Proanthocyanidine



A.4 Massenspektrometrische Daten: Flavonole

Tabelle 30: Massenspektrometrische Daten der in Moosbeere und Cranberry detektierten Flavonole

Peak Nr.	RT [min]	Verbindung	λ_{\max}	[M-H] ⁻	Fragmente
1	60.46	Myricetinhexosid	227, 261, 356	479	MS ² [479]: 316, 317 MS ³ : [479→316]: 271, 287, 178, 151
2	62.01	Myricetinhexosid	225, 252, 359	479	MS ² [479]: 316, 317 MS ³ : [479→316]: 271, 179, 287, 151
3	63.55	Myricetinpentosid	260, 355	449	MS ² [449]: 316, 317 MS ³ : [449→316]: 271, 287, 178, 151
4	68.68	Myricetinpentosid	228, 261, 353	449	MS ² [449]: 316, 317 MS ³ : [449→316]: 271, 179, 287, 151
5	71.32	Quercetingalactosid	256, 354	463	MS ² [447]: 301 MS ³ : [447→301]: 179, 151, 273, 257
6	73.91	Quercetinglucosid	257, 353	463	MS ² [463]: 301, 300 MS ³ : [463→301]: 271, 179, 255, 151
7		Quercetinrutinosid		609	MS ² [609]: 301, 300 MS ³ : [609→301]: 271, 179, 255, 151
8	75.55	Laricitrinhexosid	227, 256, 357	493	MS ² [493]: 330, 331 MS ³ : [493→330]: 315, 301, 287, 285
9	76.66	Quercetinpentosid	228, 255, 355	433	MS ² [433]: 301, 300 MS ³ : [433→301]: 271, 179, 151, 255
10	78.75	Quercetinpentosid	227, 256, 354	433	MS ² [433]: 300, 301 MS ³ : [433→301]: 271, 255, 179, 151
11	80.03	Kämpferolhexosid	227, 265, 352	447	MS ² [447]: 284, 285 MS ³ : [447→285]: 255, 227
12	82.08	Quercetinpentosid	227, 257, 352	433	MS ² [433]: 301, 300 MS ³ : [433→301]: 179, 151, 271, 255
13	84.92	Quercetinrhamnosid	259, 350	447	MS ² [447]: 301, 300 MS ³ : [447→301]: 179, 271, 255, 151
14	86.36	Isorhamnetinhexosid	221, 255, 354	477	MS ² [477]: 314, 315 MS ³ : [477→314]: 285, 300, 271, 243
15	87.70	Laricitrinpentosid	258, 356	463	MS ² [463]: 330, 331 MS ³ : [463→330]: 315, 179, 151
16	88.64	Syringetinhexosid	227, 254, 357	507	MS ² [507]: 344, 345, 387 MS ³ : [507→344]: 330, 301, 316, 273
17	91.47	Isorhamnetinpentosid	227, 258, 356	447	MS ² [447]: 314, 315 MS ³ : [447→314]: 285, 286, 271, 300, 243
18	92.39	Isorhamnetinpentosid	227, 255, 354	447	MS ² [447]: 314, 315 MS ³ : [447→314]: 285, 286, 271, 300, 243
19	92.81	Syringetinpentosid	254, 355	477	MS ² [477]: 344, 345 MS ³ : [477→344]: 301, 316, 273, 330
20	93.97	Isorhamnetinpentosid	227, 256, 352	447	MS ² [447]: 314, 315 MS ³ : [447→314]: 285, 271, 286, 300, 243
21	95.46	Syringetinpentosid	227, 256, 356	477	MS ² [477]: 344, 345 MS ³ : [477→344]: 316, 301, 330, 273
22	95.46	Syringetindeoxyhexosid	227, 256, 356	491	MS ² [491]: 344, 345 MS ³ : [491→344]: 330, 316, 301, 273
23	97.7	Quercetin	229, 256, 369	301	MS ² [301]: 179, 151, 273, 257 MS ³ : [301→179]: 151, 169, 183
24	98.57	Quercetin-(cumaroyl)-hexosid	228, 266, 314	609	MS ² [609]: 463, 301 MS ³ : [609→463]: 151, 169, 183
25	102.06	Quercetin-(benzoyl)-hexosid	229, 256, 356	567	MS ² [567]: 300, 445, 301, 271 MS ³ : [567→300]: 271, 255, 179, 151

Tabelle 31: Massenspektrometrische Daten der in Preiselbeeren detektierten Flavonole

Peak Nr.	RT [min]	Verbindung	λ_{\max}	[M-H] ⁻	Fragmente
1	71.40	Quercetingalactosid	226, 256, 354	463	MS ² [447]: 301 MS ³ : [447→301]: 271, 255, 179, 151
2	73.17	Quercetinglucuronid	257, 351	477	MS ² [477]: 301, 300 MS ³ : [477→301]: 179, 151
3	73.95	Quercetinglucosid	226, 256, 353	463	MS ² [447]: 301 MS ³ : [447→301]: 179, 271, 255, 151
4		Quercetinrutinosid	227, 256, 354	609	MS ² [609]: 301, 300 MS ³ : [433→301]: 179, 271, 151, 255
5	76.72	Quercetinpentosid	228, 257, 355	433	MS ² [433]: 301, 300 MS ³ : [433→301]: 179, 271, 151, 255
6	78.85	Quercetinpentosid	227, 265, 355	433	MS ² [433]: 301 MS ³ : [433→301]: 271, 255, 179, 151
7	80.06	Kämpferolhexosid	227, 266, 348	447	MS ² [447]: 284, 285 MS ³ : [447→285]: 255, 227
8	82.20	Quercetinpentosid	227, 257, 352	433	MS ² [433]: 301, 300 MS ³ : [433→301]: 179, 151, 271, 255
9	84.10	Quercetinderivat	221, 256, 351	565	MS ² [565]: 301, 300, 415 MS ³ : [565→301]: 179, 151, 271
10	84.97	Quercetindesoxyhexosid	228, 257, 348	447	MS ² [447]: 301, 300 MS ³ : [447→301]: 271, 255, 179, 151
11	91.41	Kämpferolpentosid	227, 265, 351	417	MS ² [417]: 285, 284 MS ³ : [417→285]: 255, 229, 267, 199
12	91.72	Quercetinhexosid-derivat	251, 293, 340	583	MS ² [583]: 463, 301 MS ³ : [583→463]: 301, 343
13	93.13	Kämpferoldesoxyhexosid	227, 264, 345	431	MS ² [431]: 285, 284 MS ³ : [447→314]: 255, 257, 229, 267
14	96.36	Quercetin-(HMG)-rhamnosid	229, 257, 349	591	MS ² [591]: 447, 489, 529, 301 MS ³ : [591→447]: 301, 300
15	97.35	Quercetin	227, 257, 369	301	MS ² [301]: 179, 151, 257, 273 MS ³ : [301→179]: 151, 169, 183
16	100.93	Kämpferol-(HMG)-desoxyhexosid	228, 265, 344	575	MS ² [575]: 431, 473, 513 MS ³ : [575→431]: 285
17	102.12	Quercetin-(benzoyl)-hexosid	229, 256, 355	567	MS ² [567]: 300, 445 MS ³ : [567→300]: 271, 179, 255, 151

Tabelle 32: Massenspektrometrische Daten der in Blau- und Heidelbeeren detektierten Flavonole und andere Verbindungen bei 360 nm

Peak Nr.	RT	Verbindung	λ_{\max}	$[M-H]^-$	Fragmente
1	61,86	Feruloylchinasäure	228, 335	367	MS ² [367]: 179, 135, 191 MS ³ : [367→179]: 135
2	62,43	Myricetinhexosid	227, 261, 356	479	MS ² [479]: 316, 317, 299 MS ³ : [479→317]: 271, 179, 287, 231, 151, 137
3	63,30	Myricetinglucuronid	225, 263, 362	493	MS ² [493]: 317 MS ³ : [493→317]: 179, 151, 191, 137
4	63,94	Myricetinhexosid	227, 263, 359	479	MS ² [479]: 316, 317 MS ³ : [479→316]: 271, 287, 179, 241, 151
5	65,47	Myricetinpentosid	226, 262, 358	449	MS ² [449]: 316, 317 MS ³ : [479→317]: 179, 151, 193, 271, 137
6	66,60	Quercetin-dimethylether-Derivat	228, 355	509	MS ² [509]: 329, 347, 355 MS ³ : [493→329]: 314, 329, 149
7	66,96	Quercetin-dimethylether-Derivat	228, 358	509	MS ² [509]: 329, 347, 355, 193 MS ³ : [509→329]: 314, 299, 145, 167, 139
8	68,15	Quercetinhexosid-pentosid	226, 356	595	MS ² [595]: 300, 301, 463 MS ³ : [595→300]: 271, 255, 272
9	68,87	Quercetin-dimethylether-Derivat	226, 355	479	MS ² [479]: 329, 325, 299, 347, 461, 149 MS ³ : [479→329]: 314, 149, 299, 197
10	69,57	Cumaroyliridoid	231, 306	535	MS ² [535]: 371, 372, 329, 191, 163, 491 MS ³ : [535→371]: 165, 191, 147, 135
11	70,45	Myricetinpentosid	226, 268, 366	449	MS ² [449]: 316, 317 MS ³ : [449→316]: 271, 287, 242, 179
12	71,12	Myricetin-3-O-rhamnosid	263, 358	463	MS ² [463]: 316, 317 MS ³ : [463→316]: 271, 287, 242, 179, 316
13	73,56	Quercetin-hexosid (galactosid)	227, 257, 354	463	MS ² [463]: 301 MS ³ : [463→301]: 179, 151, 271, 255, 193, 107
14	74,34	Cumaroyliridoid	231, 312	535	MS ² [535]: 371, 373, 329, 191, 163, 491 MS ³ : [535→371]: 165, 191, 147
15	75,44	Rutin	231, 355	609	MS ² [609]: 301, 300 MS ³ : [609→301]: 165, 191, 147
16	75,47	Quercetinglucuronid	227, 257, 354	477	MS ² [477]: 301 MS ³ : [477→301]: 179, 151, 273, 257, 193
17	76,14	Quercetin-3-O-glucosid	255, 355	463	MS ² [463]: 301 MS ³ : [463→301]: 179, 151, 271, 257, 107
18	77,75	Laricitrinhexosid	226, 253, 359	493	MS ² [493]: 331 MS ³ : [493→331]: 316, 315, 179, 287, 151
19	78,99	Quercetinpentosid	257, 353	433	MS ² [433]: 301 MS ³ : [479→301]: 271, 179, 255, 151
20	79,25	Laricitrinhexosid	227, 256, 357	493	MS ² [493]: 331 MS ³ : [479→331]: 316, 315, 179, 287, 151
21	80,36	Laricitringlucuronid	254, 358	507	MS ² [507]: 331 MS ³ : [507→331]: 316, 179, 151, 135
22	81,41	Quercetinpentosid	226, 257, 353	433	MS ² [433]: 301 MS ³ : [479→301]: 271, 179, 255, 151
23	82,49	Kämpferolhexosid	226, 265, 354	447	MS ² [447]: 284, 285, 255 MS ³ : [447→284]: 255, 227
24	83,36	Quercetin-(malonyl)-hexosid	221, 259, 354	549	MS ² [549]: 505 MS ³ : [549→505]: 301, 463, 445
25	83,97	Quercetin-(malonyl)-hexosid	259, 354	549	MS ² [549]: 505 MS ³ : [549→505]: 301, 463, 445
26	84,82	Quercetinpentosid	226, 259, 359	433	MS ² [433]: 301 MS ³ : [439→301]: 179, 151, 271, 255

27	85,43	Dikaffeoylchinasäure	240, 296, 327	515	MS ² [515]: 353, 335, 191 MS ³ : [515→353]: 191, 179, 135
28	85,77	Laricitripentosid	226, 262, 364	463	MS ² [463]: 330, 301 MS ³ : [463→330]: 315, 301
29	86,60	Kämpferol-hexosid-desoxyhexosid		593	MS ² [593]: 285 MS ³ : [593→285]: 257, 267, 229, 213, 151
30	88,21	Quercetin-desoxyhexosid	246, 355	447	MS ² [447]: 316, 317 MS ³ : [447→301]: 179, 271, 255, 151
31	88,20	Isorhamnetinhexosid	228, 355	477	MS ² [477]: 314, 315, 301, 271 MS ³ : [477→315]: 300, 287, 244
32	89,19	Isorhamnetin-hexosid-desoxyhexosid	227, 256, 354	623	MS ² [623]: 315, 300 MS ³ : [623→315]: 300, 272, 244, 163
33	89,40	Quercetin-pentosid-desoxyhexosid	227, 264, 347	579	MS ² [579]: 300, 301, 429, 475 MS ³ : [579→300]: 271, 255, 243, 151
34	89,88	Isorhamnetinhexosid	254, 355	477	MS ² [477]: 314, MS ³ : [477→300]: 271, 255, 243, 151
35	89,90	Syringetinhexosid	226, 254, 357	507	MS ² [507]: 344 MS ³ : [507→344]: 330, 331, 301, 315, 273
36	90,73	Syringetinhexosid	226, 254, 357	507	MS ² [507]: 344 MS ³ : [507→344]: 330, 331, 301, 315, 273
37	91,21	unbekannt			
38	91,85	Syringetinglucuronid	227, 255, 359	521	MS ² [521]: 345, 331 MS ³ : [521→345]: 330, 315
39	92,79	Cumaroylchinasäure-hexosid	237, 316	499	MS ² [499]: 337, 353, 163 MS ³ : [499→337]: 163, 173, 191, 119
40	93,58	Isorhamnetinpentosid	228, 361	447	MS ² [447]: 314, 315, 285 MS ³ : [447→314]: 285, 271, 243, 300
41	93,80	Syringetinpentosid	226, 303, 357	477	MS ² [477]: 344, 345 MS ³ : [477→344]: 301, 315, 273, 330
42	94,29	Kämpferolpentosid	220, 246, 344	431	MS ² [431]: 285 MS ³ : [431→285]: 257, 267, 229, 213, 163
43	94,62	Cumarsäurederivat	228, 311	411	MS ² [411]: 163, 145 MS ³ : [411→163]: 119
44	95,12	Isorhamnetinpentosid	255, 351	447	MS ² [447]: 315, 314, 285 MS ³ : [447→315]: 300, 285, 271, 243
45	95,50	Isorhamnetin-desoxyhexosid	228, 255, 348	461	MS ² [461]: 314, 315, 285 MS ³ : [461→314]: 285, 271, 243, 299
46	96,22	Syringetin-desoxyhexosid	257, 351	491	MS ² [491]: 345, 329 MS ³ : [491→345]: 330, 315, 301, 273, 241
47	96,49	Syringetinpentosid	228, 261, 361	477	MS ² [477]: 344, 345 MS ³ : [477→344]: 301, 315, 273, 330
48	97,25	Syringetin-(acetyl)-hexosid	227, 256, 359	549	MS ² [549]: 344, 386, 329 MS ³ : [549→344]: 316, 301, 273, 329
49	97,37	Quercetin-3-O-(4'-HMG)-rhamnosid	229, 255, 314	591	MS ² [591]: 447, 489, 529 MS ³ : [591→447]: 301, 300
50	97,56	Syringetin-(acetyl)-hexosid	227, 256, 359	549	MS ² [549]: 344, 386, 329 MS ³ : [549→344]: 316, 301, 273, 329
51	98,87	Quercetin	257, 369	301	MS ² [301]: 179, 151, 273, 257 MS ³ : [301→179]: 151, 169, 183
52	99,39	Quercetin-(cumaroyl)-galactosid	226, 303, 357	609	MS ² [609]: 463, 301 MS ³ : [609→463]: 301, 300
53	100,16	Laricitrin	228, 254, 372	331	MS ² [331]: 316, 179, 151, 287 MS ³ : [331→316]: 179, 271, 287, 164, 151

A.5 Massenspuren der Anthocyane in Cranberry und Moosbeere

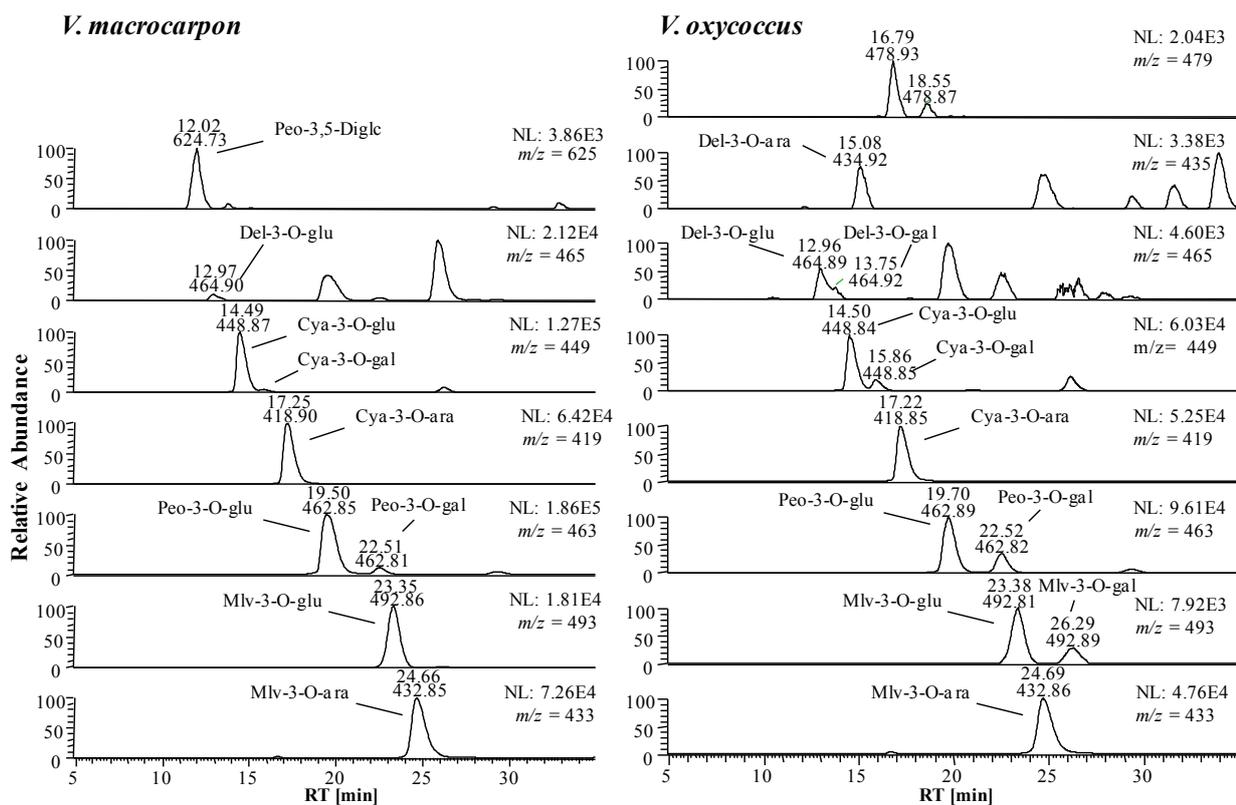


Abbildung 51: Massenspuren der in Cranberries und Moosbeeren zugeordneten Anthocyane

A.6 Gerichtsurteil zur Cranberry

Irreführung; Saft; Moosbeere; Cranberry

LFGB § 11 Abs. 1; UWG §§ 4 Nr. 11, 8 Abs. 1, 12 Abs. 2

Der Verbraucher verbindet mit der Bezeichnung eines Saftes mit "Cranberry" einen Saft aus einer Frucht, die ihm in Form der großwichtigen Beere durch den Import aus Nordamerika als "Cranberry" bekannt ist. Eine andere Beurteilung folgt auch nicht daraus, dass in den gemeinsamen Standards der codex alimentarius der Kommission der Weltgesundheitsorganisation und der Ernährungs- und Landwirtschaftsorganisation sowie in dem Codex-Standard 247-2005, der die Grundlage für die Harmonisierung lebensmittelrechtlicher Bestimmungen bildet, die übliche Verkehrsbezeichnung für die verwendeten Früchte bei der Herstellung von Saft oder Nektar aus den Sorten Vaccinium Cranberry lautet.

OLG Celle, *Urteil* vom 6.5.2010 - 13 U 194/09

Gründe

I.

Von einer Darstellung des Sach- und Streitstandes wird gemäß den §§ 540 Abs. 2, 313 a Abs. 1 Satz 1 ZPO abgesehen.

II.

Die Berufung des Verfügungsklägers (im Folgenden: Kläger) ist zulässig und begründet. Demgegenüber hat die zulässige Berufung der Verfügungsbeklagten (im Folgenden: Beklagte) in der Sache keinen Erfolg.

A. Berufung der Beklagten

1. Entgegen der Auffassung der Beklagten ist ihre Berufung nicht deshalb begründet, weil die vom Landgericht Lüneburg mit Urteil vom 12.11.2009 erlassene einstweilige Verfügung nicht innerhalb der Frist des § 929 Abs. 2 ZPO ordnungsgemäß vollzogen wurde. Der Kläger hat das angefochtene Urteil innerhalb der ab Verkündung der Entscheidung am 12.11.2009 laufenden Monatsfrist (§§ 187 Abs. 1, 188 Abs. 2 BGB, § 222 Abs. 1 und 2 ZPO), von Anwalt zu Anwalt zugestellt. Allerdings hat er die unter Ziff. 6 der Urteilsverfügung angeordnete Sicherheitsleistung in Höhe von 100.000 EUR nicht innerhalb der vorgenannten Frist gegenüber der Beklagten erbracht. Nach ständiger Rechtsprechung muss in den Fällen, in denen die Vollziehung einer einstweiligen Verfügung von einer Sicherheitsleistung abhängig gemacht worden ist, die Sicherheit innerhalb der Vollziehungsfrist des § 929 Abs. 2 ZPO geleistet werden (OLG Celle, OLGR 2006, 378 f.; OLG Hamm, MDR 1995, 412; KG; KGR 1994, 212, OLG München, NJW-RR 1988, 1466). Aus dieser Fristversäumung kann die Beklagte indes nichts für sich herleiten, weil der Kläger auch gegen die Anordnung der Sicherheitsleistung Berufung eingelegt hat und nicht verpflichtet ist, eine nicht seinem Begehren entsprechende und nur gegen Sicherheitsleistung ergangene einstweilige Verfügung zu vollziehen

(OLG Celle, OLGR 1995, 116; Bernecke, Die einstweilige Verfügung in Wettbewerbssachen, 2. Aufl., Rdn. 307).

2. Ohne Erfolg macht die Beklagte geltend, dass die vom Kläger begehrte einstweilige Verfügung unbegründet gewesen sei. Dem nach § 8 Abs. 3 Nr. 2 UWG klagebefugten Verband steht gemäß § 8 Abs. 1, §§ 3, 4 Nr. 11 UWG i.V.m. § 11 Abs. 1 Satz 1 und 2 Nr. 1 LFGB ein Anspruch auf Unterlassung in der von ihm beantragten Form zu.

a) § 11 Abs. 1 LFGB ist dazu bestimmt, i.S. v. § 4 Nr. 11 UWG das Marktverhalten der Wettbewerber zu regeln (Köhler in: Köhler/Bornkamm, Wettbewerbsrecht 28. Aufl. § 4 Rn. 11.136).

b) Mit dem Landgericht ist davon auszugehen, dass der Vertrieb des von der Beklagten aus der gewöhnlichen Moosbeere (V.) gewonnenen Saftes und die Werbung hierfür als "C.-Saft" irreführend i.S. des § 11 Abs. 1 Nr. 1 LFGB ist.

aa) Bei der Prüfung, ob eine Angabe über ein Lebensmittel geeignet ist, den Verkehr über dessen Eigenschaften irre zu führen, kommt es nicht auf den objektiven Wortsinn und nicht darauf an, wie der Werbende selbst seine Aussage über die Ware oder gewerbliche Leistung verstanden haben will. Fehlt es an einer gesetzlichen Normierung der Beschaffenheit eines Lebensmittels (vgl. Zipfel/Rathke, Lebensmittelrecht, EL 137 Stand: Juli 2009 § 11 LFGB Rdn. 283), ist entscheidend, wie ein durchschnittlich informierter, aufmerksamer und verständiger Durchschnittsverbraucher diese Angabe wahrscheinlich auffassen wird (EuGH, Urteil vom 16. 7. 1998 - Rs.C-210/96, NJW 1998, 3183, 3185 Tz.37 - Gut Springenheide; BGH, Urteile vom 12. 10. 2003 - I ZR 150/01, GRUR 2004, 244, 245 -Marktführerschaft und vom 6. 5. 2004 - I ZR 275/01, GRUR 2004, 793, 796 -Sportlernahrung II).

bb) Gemessen daran ist auf dem deutschen Markt unter einem als "C.-Saft" vertriebenen Produkt lediglich der aus Amerika stammende, aus der so genannten "großwuchtige Moosbeeren" (botanisch: V.) gewonnene Saft zu verstehen. Dass im angelsächsischen Sprachraum sowohl die in Nordamerika beheimatete "V." als auch die europäische gewöhnliche Moosbeere (botanisch: V. als "C." bezeichnet werden, ist für das Verbraucherverständnis auf dem hier relevanten deutschen Markt dagegen nicht von Bedeutung. Dem durchschnittlich informierten und verständigen Verbraucher, zu denen auch die Mitglieder des Senats gehören (BGH, Urteile vom 12. 10. 2003 - I ZR 150/01, GRUR 2004, 244, 245 - Marktführerschaft), steht bei der Bezeichnung eines Saftes mit "C." nicht die englische Übersetzung des Begriffes "Moosbeere" vor Augen. Stattdessen verbindet er damit einen Saft aus einer Frucht, die ihm in Form der großwichtigen Beere durch den Import aus Nordamerika als "C." bekannt ist.

Eine andere Beurteilung folgt auch nicht daraus, dass in den gemeinsamen Standards der codex alimentarius der Kommission der Weltgesundheitsorganisation und der Ernährungs- und Landwirtschaftsorganisation sowie in dem Codex-Standard 247-2005, der die Grundlage für die Harmonisierung lebensmittelrechtlicher Bestimmungen bildet, die übliche Verkehrsbezeichnung für die verwendeten Früchte bei der Herstellung von Saft oder Nektar aus den Sorten V. und V. jeweils "C." lautet. Damit lässt sich kein anderes Verbraucherverständnis auf dem deutschen Markt begründen. Dasselbe gilt für die von der Beklagten zitierte Entscheidung des EuGH vom 5. 12. 2001 (C-448/98). Dort wurde dem Codex alimentarius eine Hinweisfunktion für eine Definition der Eigenschaften des dort im Streit stehenden "E." beigegeben, weil der Käse ohne Rinde dort aus den gleichen Zutaten und nach derselben Methode wie Emmentaler mit Rinde hergestellt wurde (Tz. 32). Damit ist der vorliegende Sachverhalt aber nicht vergleichbar. Im Gegensatz zu dem dort entschiedenen Fall erfolgt die Gewinnung

hier gerade nicht aus denselben Zutaten, sondern einerseits aus der in Nordamerika beheimateten "großwichtigen Moosbeere" (V.) und andererseits aus der europäischen Form der gewöhnlichen Moosbeere (V.L.).

cc) Indem die Beklagte den von ihr aus der gewöhnlichen Moosbeere gewonnenen Saft als "C.-Saft" vertreibt und bewirbt, erweckt sie damit bei einem erheblichen Teil der angesprochenen Verbraucher die unzutreffende Vorstellung, dass es sich bei diesem Produkt um einen aus der in Nordamerika beheimateten großwichtigen Moosbeere (V.) und nicht aus der in Europa geernteten gewöhnlichen Moosbeere (V.) hergestellten Saft handelt. Mit dieser Täuschung bezweckt sie, den auf dem deutschen Verbrauchermarkt höheren Bekanntheitsgrad der C. im Vergleich zur Moosbeere für ihr Produkt zu nutzen. Die Irreführung über die konkret verwendete Frucht und deren Herkunft ist auch relevant, weil der Verkaufspreis für den aus der großwichtigen Moosbeere hergestellten C. wegen der höheren Transportkosten der aus Nordamerika zu importierenden Früchte regelmäßig höher ist als der Preis für gewöhnlichen Moosbeerensaft.

B. Berufung des Klägers

1. Die Berufung des Klägers ist zulässig.

a) Bei der von dem Kläger beantragten einstweiligen Verfügung handelt es sich - entgegen der Annahme des Landgerichts - nicht um acht selbstständige, sondern um einen einheitlichen Klageantrag. Nach § 253 Abs. 2 Satz 2 ZPO muss der Klageantrag hinreichend bestimmt sein und so den Streitgegenstand und damit den Umfang der Prüfungs- und Entscheidungsbefugnis des Gerichts in der Weise festlegen, dass der Unterlassungsbeklagte erkennen kann, wogegen er sich verteidigen soll. Den dabei auftretenden Schwierigkeiten bei der Antragsfassung wird regelmäßig durch die Stellung eines "insbesondere"-Antrags Rechnung getragen. Dieser Zusatz stellt nach einhelliger Auffassung weder eine Einschränkung noch eine Erweiterung des im Obersatz formulierten Klagebegehrens dar (BGH, Urteil vom 25. 4. 1991 - I ZR 134/90, GRUR 1991, 772, 773 - Anzeigenrubrik I; Teplitzky, Wettbewerbsrechtliche Ansprüche und Verfahren, 9. Aufl. Kap. 51 Rdn. 39).

Das gilt auch hier. Der Kläger begehrt gegenüber der Beklagten die Unterlassung, ein Produkt bestehend aus dem aus der Moosbeere gewonnenen Saft unter der Bezeichnung "C.-Saft" zu bewerben und/oder zu vertreiben. Erst unter diesem "Obersatz" werden mit dem Zusatz "insbesondere" bestimmte - aus Sicht des Klägers - unter sein abstrakt formuliertes Unterlassungsgebot fallende Werbeaussagen aufgeführt. Die bezifferten Teilanträge stellen daher nur Beispiele für mögliche Verstöße gegen das begehrte Unterlassungsgebot dar mit der Folge, dass eine nachträgliche Streichung von einigen beispielhaft angegebenen Werbesätzen keine Klagabweisung darstellt und auch nicht zu Kostennachteilen des Klägers führen kann (KG GRUR 1988, 78, 79; Teplitzky, a.a.O.).

b) Gegen die Zulässigkeit der klägerischen Berufung bestehen keine Bedenken, obwohl das Landgericht den von ihm geltend gemachten Unterlassungsanspruch wegen irreführender Werbung hinsichtlich der unter Ziff. I 4., 5. und 7. dargestellten Aussagen bejaht hat. Das vom Landgericht tenorierte Verbot, die Bezeichnung "C." nicht ohne aufklärende Zusätze zu verwenden, ist nicht von den Anträgen der Parteien gedeckt (§ 308 Abs. 1 ZPO). Nach herrschender Auffassung ist das Gericht an einen bestimmten Klageantrag gemäß § 253 Abs. 2 Nr. 2 ZPO, § 308 Abs. 1 ZPO bei der wettbewerblichen Unterlassungsverfügung gebunden (Teplitzky, Wettbewerbsrechtliche Ansprüche und Verfahren, 9. Aufl. Kap. 54 Rdn. 38

m.w.N.; Köhler/Bornkamm, UWG 28. Aufl., § 12 Rdn. 3.30). § 938 ZPO gewährt dem Gericht lediglich geringfügig - gegenüber einem normalen Klageantrag - weitergehende Möglichkeiten zur Ausdeutung, Klarstellung und Umformulierung des Antragsbegehrens (Teplitzky, a.a.O.). Dem Gericht bleibt es jedoch versagt, dem Antragsteller etwas zuzusprechen, was dieser nicht beantragt hat (§ 308 Abs. 1 ZPO).

Das ist hier indes der Fall. Das Landgericht hat nicht den vom Kläger erstinstanzlich gestellten und mit seiner Berufung weiter verfolgten Antrag zugesprochen, sondern ein inhaltlich davon abweichendes Unterlassungsgebot tenoriert. Zutreffend verweist der Kläger darauf, dass durch den vom Landgericht vorgesehenen Zusatz die Gefahr der nach seiner Auffassung zu unterlassenden Irreführung nicht gebannt, sondern - im Gegenteil - weitere Irrtümer bei dem Verbraucher entstehen könnten.

2. Die von dem Kläger begehrte einstweilige Verfügung in Gestalt des mit der Berufungsbeurteilung vom 20. 1. 2010 gestellten Antrags ist zulässig und begründet.

a) Der für den Erlass der begehrten einstweiligen Verfügung erforderliche Verfügungsgrund ist gegeben, da die Dringlichkeit nach § 12 Abs. 2 UWG vermutet wird und die Beklagte eine die Dringlichkeit ausschließende (frühere) Kenntniserlangung des Klägers nicht behauptet hat (Köhler, in: Köhler/Bornkamm, UWG 28. Aufl. § 12 Rdn. 3.13).

b) Aus den bereits unter A. 2. dargestellten Erwägungen ist die einstweilige Verfügung des Klägers auch begründet.

3. Von der Vollziehung der einstweiligen Verfügung gegen Sicherheit gemäß den §§ 936, 921 Satz 2 ZPO hat der Senat abgesehen. Die in das Ermessen des Gerichts gestellte Anordnung kann veranlasst sein, wenn die Gefahr eines besonders hohen Schadens zu erwarten ist oder Zweifel an der ausreichenden Solvenz des Gläubigers im Hinblick auf einen etwaigen Schadensersatzanspruch bestehen (Zöller/Vollkommer, ZPO 27. Aufl. § 921 Rdn. 3.). Anhaltspunkte dafür hat die Beklagte nicht dargetan.

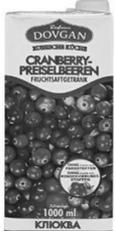
III.

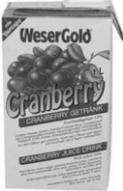
Die Kostenentscheidung folgt aus den §§ 91 Abs. 1, 97 Abs. 1 ZPO.

A.7 Liste der untersuchten Handelsproben

Proben	Hersteller	Kennzeichnung/ Zutaten
Cranberrynektar		
1. 	Burkhardt Fruchtsäfte GmbH & Co. KG, 8915 Laichingen	Cranberry-Nektar aus Cranberrysaftkonzentrat, Fruchtgehalt mindestens 30% Zutaten: Wasser, Cranberrysaft aus Cranberrysaftkonzentrat, Zucker
2. 	EDEKA Zentrale AG & Co. KG, D-22291 Hamburg	Cranberry-Nektar aus Cranberrysaftkonzentrat, Fruchtgehalt: mindestens 30% Zutaten: Wasser, Cranberrysaft aus Cranberrysaftkonzentrat, Zucker, Antioxidationsmittel: Ascorbinsäure
6. 	Emil Jacoby, Qualitätsfruchtsäfte, 79424 Augen	Bio Cranberrynektar, Fruchtgehalt mind. 25% Zutaten: Wasser, Bio Cranberrysaft, Bio Zucker
7. 	Eckes-Granini Deutschland GmbH, 55266 Nieder-Olm	Cranberry-Nektar aus Fruchtsaftkonzentrat, Fruchtgehalt: mindestens 30% Zutaten: Wasser, Cranberrysaft aus Cranberrysaftkonzentrat (30%), Zucker, konzentrierter Zitronensaft
8. 	Erwin Dietz GmbH, 74706 Osterburken	Cranberry-Nektar aus Cranberrysaftkonzentrat, Fruchtgehalt mindestens 30% Zutaten: Wasser, Cranberrysaft aus Cranberrysaftkonzentrat, Zucker.
9. 	Dimes Üremit Yeri, Tokat, Türkei	Cranberry nectar, Fruit content: 40% min. Made from concentrate. Ingredients: Water, suger, cranberry juice concentrate, acidity regulator (citric acid), natural cranberry flavor. Pasteurized

<p>10.</p> 	<p>Lindauer: Bodensee-Fruchtsäfte GmbH, Keltereiweg, D-88138 Lindau</p>	<p>Cranberry-Nektar aus Cranberrysaftkonzentrat; Fruchtgehalt: Mindestens 30%</p> <p>Zutaten: Wasser, Cranberrysaft aus Cranberrysaftkonzentrat, Zucker, Vitamin C</p>
Cranberrynektar/-saft gemischt mit anderen Früchten		
<p>11.</p> 	<p>Hitchcock, Sportfit Fruchtsaft GmbH & Co. KG, Ruckes 90, 41238 Mönchengladbach</p>	<p>Premium Himbeere-Cranberry Verfeinert mit Traube, mit Direktsaft</p> <p>Zutaten: Wasser, Himbeersaft (20%), Cranberrymark (11%), Zucker, weißer Traubensaft (9%), Himbeermark (2%)</p>
<p>12.</p> 	<p>PomWonderful LLC, Bottled and imported for PomWonderful BV, Panamalaan 110, 1019 AZ, Amsterdam NL</p>	<p>POM Wonderful, Pomgranate Cranberry 100% Juice</p> <p>Ingridients: Pomgranate juice (85%), and cranberry juice (15%) from concentrate.</p>
<p>13.</p> 	<p>Bjorg Distriborg France, Service Consommateurs, 69561 St Genis LAval Cedex France</p>	<p>Jus de Pomme et de Lingonberry, pasteurisé</p> <p>Ingrédients: jus de pomme (88%), jus de lingonberry (12%) Bio</p>
<p>14.</p> 	<p>Beutelsbacher Fruchtsaftkellerei GmbH, 71370 Weinstadt, Deutschland</p>	<p>Mehrfruchtgetränk aus kanadischen Cranberrys mit Traubensüsse und Agavendicksaft (bio)</p> <p>Zutaten: Wasser, Cranberrysaft (Kanada) 31%, Traubensüsse (Italien) 15%, Agavendicksaft (Mexiko)</p>
<p>15.</p> 	<p>Happy Day Rauch Fruchtsäfte, A-6830 Rankweil, Austria</p>	<p>Cranberry Apfel Nektar aus Cranberrysaft/ -konzentrat und Apfelsaftkonzentrat. Fruchtgehalt: mindestens 30% (Cranberry 20%, Apfel 10%)</p> <p>Zutaten: Wasser, Zucker Cranberrysaft, Cranberrysaftkonzentrat, Apfelsaftkonzentrat, Säuerungsmittel: Zitronensäure; Vitamin C. Pasteurisiert</p>

<p>16.</p> 	<p>Paradiso, Ausgewählt und geprüft: Penny Markt GmbH, D-50603 Köln</p>	<p>Traube-Apfel-Schwarze Johannisbeere-Brombeer-Cranberry-Saft, 100% Direktsaft Zutaten: Traubensaft (52%), Apfelsaft (28%), schwarzer Johannisbeersaft (8%), Brombeersaft (7%), Cranberrymark (5%) Enthält von Natur aus Zucker</p>
<p>17.</p> 	<p>Valensina GmbH, Ruckes 90, D-41238 Mönchengladbach</p>	<p>Cranberry, Himbeere, Traube mit Apfel Mehrfachfruchtsaft mit Fruchtmark, 100 % direkt gepresst Zutaten: Traubensaft (76%), Traubensaft (76%), Himbeermark (10%), Cranberrymark (7%), Apfelsaft (7%). Schonend pasteurisiert</p>
<p>18.</p> 	<p>Jamnica d.d. Zagreb, Getaldićeva 3, Hrvatska/ Croatia</p>	<p>Brusnica (lat. Vaccinium macrocarpon) aronija nectar Cranberry-Aronia-Nektar, hergestellt aus Fruchtsaftkonzentrat: Fruchtsaftgehalt: mind. 30 % Zutaten: Wasser, Zucker, Cranberrysaftkonzentrat (20%), Aroniasaftkonzentrat (10%), Säureregulator: Citronensäure, Antioxidationsmittel: Ascorbinsäure. Pasteurisiert</p>
<p>19.</p> 	<p>Rotbäckchen Vertriebs GmbH, 53572 Unkel/ Rhein</p>	<p>Herzgesund, Direktsaft, ohne Zuckerzusatz Mehrfachfruchtsaft mit Kalium, Magnesium und Weissdornextrakt. Zutaten: Apfelsaft, weißer Traubensaft, Cherimoyamark, Aroniasaft, Cranberrysaft, Kaliumcitrat, Magnesiumcitrat, Weissdornbeerenextrakt (4:1)</p>
Fruchtsaftgetränke		
<p>20.</p> 	<p>Dovgan GmbH Russische Küche, Zinkhüttenweg 6, D-22113 Hamburg</p>	<p>Fruchtsaftgetränk aus 10% Cranberrysaft aus Cranberrysaftkonzentrat und 10% Preiselbeersaft aus Preiselbeersaftkonzentrat Zutaten: Wasser, Fruktose-Glukose-Sirup, Cranberrysaft aus Cranberrysaftkonzentrat 10%, Preiselbeersaft aus Preiselbeersaftkonzentrat 10%, natürliches Aroma</p>

<p>21.</p> 	<p>Riha Wesergold Getränke GmbH & Co., Behrensstr. 44 - 64, 31737 Rinteln, Deutschland</p>	<p>Cranberry Getränk Zutaten: Wasser, Zucker, Glukose-Fruktose-Sirup, Cranberrysaft aus Cranberrysaftkonzentrat, Säuerungsmittel: Citronensäure, Farbstoff: E163, Aroma, Antioxidationsmittel: Ascorbinsäure</p>
<p>22.</p> 	<p>Merzinger Fruchtgetränke GmbH, D-66663 Merzig</p>	<p>Mehrfruchtgetränk mit Apfel-Cranberry Geschmack, Fruchtgehalt: 50% Zutaten: Wasser, Apfelsaft* (45%), Cranberrysaft* (4%), Fruchtsüße aus Apfelsaft, Holunderbeersaft (1%), Säuerungsmittel Citronensäure, natürliches Aroma. * aus Fruchtsaftkonzentraten</p>
<p>23.</p> 	<p>Jacoby GmbH Qualitätsfruchtsäfte, D-79424 Auggen</p>	<p>Getränk aus Granatapfel- und Cranberrysaft aus Konzentrat, 33% Fruchtgehalt Zutaten: Wasser, Granatapfelsaft (22%) aus Granatapfelsaftkonzentrat, Cranberrysaft (11%) aus Cranberrysaftkonzentrat, Zucker, Traubenschalenextrakt, Rooibostee-Extrakt, Grüntee-Extrakt, Stabilisator Pektin, Säuerungsmittel Citronensäure, Antioxidationsmittel Ascorbinsäure</p>
<p>24.</p> 	<p>Pure Juice, hergestellt für Netto Markendiscount</p>	<p>Cranberry Himbeere Traube, 100% direkt gepresst</p>
<p>25.</p> 	<p>Carpe Diem GmbH & Co KG, 5330 Fuschl am See, Österreich</p>	<p>Kombucha-Teegetränk-Schorle mit Cranberrysaft, fermentiert, wärmebehandelt Zutaten: Aufguss aus Kräutertee (Wasser und Kräuterteemischung), Rübenzucker, Cranberrysaft (5,1 %), Saftkonzentrate (Aronia, Apfel, Holunder, Zitrone, Acerola), Kohlensäure, Kombucha-Kulturen und Lactobazillen.</p>
<p>26.</p> 	<p>Whole Earth CoSa Naturprodukte GmbH, Zinkmattenstr.18b 79108 Freiburg im Breisgau</p>	<p>kohlensäurehaltiges Bio-Getränk mit Cranberry-Geschmack Zutaten: Wasser, Agavendicksaft*, Cranberrysaft* (aus Konzentrat) 4,2%, Zitronensaft* (aus Konzentrat) 0,9%, Kohlensäure, natürliche Aromen. *aus kontrolliert ökologischem Anbau</p>

Sirup		
27. 	Lowicz Agros Nova z o.o.	Zurawina Fruit Syrup with Cranberry flavor No preservatives added. Pasteurized. From concentrated juice Ingridients: sugar, glucose-fructose syrup, water, concentrated multifruit juice, 65% concentrated cranberry juice (0,1%) colours: anthocyanins, caramel, acidity regulator: citric acid, enriching substance vitamin C, flavor.
28. 	Herbapol Herbapol - Lublin" S. A. ul. Diamentowa 25, 20-471 Lublin	Syrop owocowy o smaku żurawinowym z witamina C Syrop bez konserwantów, pasteryzowany Zutaten: Zucker, Glucose-Fructose-Sirup, Wasser, 50% Cranberrysaftkonzentrat (2%), Citronensäure - Säureregulator, Aroniasaftkonzentrat, Vitamin C, Aroma
29. 	Paola Hoop Polska Sp. z o.o. - Warszawa	Syrop domowy o smaku Zurawina Sirup mit Cranberrygeschmak Zutaten: Glucose-Fructose-Sirup, Zucker, Wasser, 50% Cranberrysaftkonzentrat (0,31%), Säureregulator-Citronensäure, Farbstoff: Ammonsulfit-Zuckerkulör, Aroma
100% Saft		
30. 	Polska Róża Sp. Z o. o.	100%, Sok z owoców żurawin (<i>Oxycoccus palustris</i>), nie zawiera konserwantów any inych dodatków chemicznych. bez cukru 100% Cranberry Saft (<i>oxycoccus palustris</i>), ohne Konservierungsstoffe und chemische Zusätze, ohne Zucker (Hier kann die Übersetzung auch Moosbeere sein)
31. 	Dystrybucja Olfarm Sp z o. o., ul Fa- bryczna 1, 55-080 Pietrzykowice	100% sok z owoców żurawiny wielkoowocowej (<i>Vaccinium macrocarpon</i>) Die Übersetzung von Zurawina lautet sowohl Cranberry, Preiselbeere als auch Moosbeere

<p>32.</p> 	<p>Laboratoria Natury Sp. Z o. o., 20-150 Lublin, ul. Rapackie- go</p>	<p>Zuravita 99,83% Soku z owoców żurawiny, 0,16% beta-glukan, aro- mat cytrusowy naturalny 98,83% Cranberrysaft, 0,16% beta-Glukan, natürliches Zit- ronenaroma Werbung: Cranberrysaft verhindert die Anhaftung schädli- cher Bakterien in den Harnwegen und der Blase, daher un- terstützt der regelmäßige Verzehr von Zuravita ein rei- nungsloses Funktionieren des Harntraktes.</p>
<p>33.</p> 	<p>Przysmaki Viands Viands Sp. Z o. o., ul. Spółdzielcza 3, 05- 600 Grójec</p>	<p>Zawartość: wyłącznie sok z żurawiny wielkoowocowej (<i>Vaccinium macrocarpon</i>) Inhalt: Nur Cranberrysaft (<i>Vaccinium macrocarpon</i>)</p>
<p>34.</p> 	<p>Voelkel GmbH Fährstr. 1 29478 Hübbeck OT Pevestorf</p>	<p>100% Muttersaft, Cranberrysaft</p>
<p>35.</p> 	<p>Alnavit GmbH, D- 64404 Bickrnbach</p>	<p>% Muttersaft, Cranberrysaft ungesüßt Zutatenliste: Cranberrysaft aus nordamerikanischen Cran- berrys (<i>Vaccinium macrocarpon</i>) Der Alnavit Cranberry Saft ist ein reiner, naturtrüber Press- saft. Die Beeren aus kontrolliert ökologischem Anbau wer- den schonend verarbeitet.</p>
<p>36.</p> 	<p>Alnavit GmbH, D- 64404 Bickrnbach</p>	<p>100% Preiselbeersaft* *aus zertifizierter ökologischer Wildfruchtsammlung Der Alnavit Preiselbeer Saft ist ein reiner, naturtrüber Presssaft. Die Beeren aus zertifizierter ökologischer Wild- fruchtsammlung werden schonend verarbeitet. Dies garan- tiert den gleichbleibend hohen Qualitätsstandard des Mut- tersaftes.</p>
<p>37.</p> 	<p>Haus Rabenhorst, 53572 Unkel/ Rhein</p>	<p>100% Muttersaft, ohne Zuckerzutz Cranberry „<i>Vaccinium macrocarpon</i>“ Reiner Presssaft aus original nordamerikanischen Cran- berries.</p>

38. 	Haus Rabenhorst, 53572 Unkel/ Rhein	100% Muttersaft, ohne Zuckerzutz Preiselbeere „ <i>Vaccinium vitis-idaea</i> “
Smoothies		
39. 	Danone Chiquita Fruits SAS, 150 Boulevard Victor Hugo, 93589-Saint-Quen Cedex, France	Smoothie mit Heidelbeere & Cranberry Zutaten: Traubensaft, pürierte Äpfel, pürierte Banane, pürierte Heidelbeere (5%), pürierte Cranberry (5%), schwarzer Johannisbeersaft
40. 	Albert Heijn	Smoothie Cranberry (14%) und Himbeere
Getrocknete Früchte und „Studentenfutter“		
41. 	Seeberger KG, D-89052 Ulm www.seeberger.de	Cranberrys, gesüßt, getrocknet, ungeschwefelt, ohne Zusatz von Konservierungsstoffen Zutaten: Cranberrys, Zucker, pflanzliches Öl. Cranberrys sind die fruchtig-herben Beeren aus Nordamerika. Sie eignen sich ideal als Zutat für Kuchen, Muffins und Müsli. Keine ganzen Früchte
42. 	Alnatura GmbH, Darmstädter Str. 63, D-64404 Bickenbach	Cranberrys, getrocknet, mit Apfelsaftkonzentrat gesüßt (Bio) Zutaten: Cranberrys* (52%), Apfelsaftkonzentrat* (47%), Sonnenblumenöl* (1%) *aus ökolog. Landwirtsch. Ganze Früchte

<p>43.</p> 	<p>Hergestellt für Hergestellt für Dirk Rossmann GmbH, Isernhägener Str. 16, 30938 Burgwe- del</p>	<p>Cranberrys getrocknet, ungeschwefelt, gezuckert Zutaten: Cranberrys (42%), Zucker (37,5%), Sonnenblu- menöl</p> <p>Ganze Früchte</p>
<p>44.</p> 	<p>Bolasco Import GmbH, Heidenkampsweg, D-20097 Hamburg</p>	<p>Zutaten: Ganze Cranberrys getrocknet (60%), Zucker, Son- nenblumenöl</p> <p>Unsere Cranberrys haben wir als ganze Beeren am Stück getrocknet. Hierdurch unterscheiden sich unsere Sweet Val- ley Cranberrys von handelsüblicher Ware, welche aus den Überresten der Produktion von Cranberry-Saft gewonnen wird...</p>
<p>45.</p> 	<p>Farmer's Snack GmbH, Sinstorfer Kirchweg 74-92, D- 21077 Hamburg</p>	<p>Beeren Frucht Mischung getrocknet, ohne Stein Zutaten: Trockenfrüchte (Cranberrys, Physalis, Kirschen), Zucker, pflanzliches Öl</p> <p>Herkunftsland Cranberrys: USA</p> <p>Erzeugnisse unterliegen einer besonders schonenden Pro- duktion...</p> <p>Ganze Früchte</p>
<p>46.</p> 	<p>Farmer's Snack GmbH, Beckedorfer Bogen 27, D-21218 Ham- burg</p>	<p>Studentenfutter ohne Rosinen Nuss-Trockenfrucht- Mischung mit 58% Nusskernen und 42% Trockenfrüchten Zutaten: 32% Cranberrys, getrocknet (Cranberrys 65%, Zu- cker, pflanliches Öl), geröstete Erdnüsse, Cashewkerne, Kirschen getrocknet, Mandel-, Paranuss-, Walnusskerne Ganze Beeren?</p>
<p>47.</p> 	<p>Maryland Trocken- frucht Vertriebs- GmbH, D-24547 Henstedt-Ulzburg, Postfach 1154</p>	<p>Nuss-Frucht-Mischung mit getrockneten Cranberrys (gezu- ckert)</p> <p>Zutaten: getrocknete Cranberrys (Cranberrys, Zucker), Obst 30% (in veränderlichen Gewichtsanteilen): Cashewkerne, Mandeln (blanchiert), Walnusskerne, Erdnuskerne 30% (geröstet), pflanzliches Öl</p> <p>Keine ganzen Früchte</p>

<p>48.</p> 	<p>Hergestellt für Netto: Marken-Discount AG & Co. KG, 93142 Maxhütte-Haidhof</p>	<p>Cranberrys ganz, gesüßt, getrocknet Zutaten: 53% Cranberrys, Zucker, Öl pflanzlich</p> <p>Ganze Früchte</p>
<p>49.</p> 	<p>Ausgewählt und geprüft: Penny Markt GmbH, D-50603 Köln</p>	<p>Zutaten: Cranberrys getrocknet (65%), Zucker, Sonnenblumenöl</p> <p>Keine ganzen Früchte</p>
<p>50.</p> 	<p>Hergestellt für: basic AG, Schleißheimer Str. 162, D-80797 München</p>	<p>Cranberrys gesüßt, getrocknet Zutaten: Cranberrys* (52%), Apfeldicksaft* (47%), Sonnenblumenöl* (1%) *aus ökolog. Landwirtsch.</p> <p>Keine ganzen Früchte</p>
Fruchtaufstriche		
<p>51.</p> 	<p>Allos GmbH Imkerhof, 49757 Mariendrebber</p>	<p>Zutaten: Cranberrys* 55%, Agavendicksaft*, Traubensaft*, Apfeldicksaft*, Geliermittel: Apfelpektin, Zitronensaft*, Festigungsmittel: Calciumcitrat. *aus ökologischem Anbau</p>
<p>52.</p> 	<p>Lorenz & Lihn Obst-Edel-Erzeugnisse GmbH & Co. KG., D-19246 Zarrentin</p>	<p>Wildfrucht-Aufstrich Zutaten: Cranberrys (40%), Rohrzucker, Wasser, Geliermittel Pektine, Säureregulatoren Natriumcitrate, ungehärtetes Pflanzenfett (0,01%) Aus wild wachsenden Früchten</p>
<p>53.</p> 	<p>W. L. Ahrens GmbH & Co KG, D-33054 Paderborn</p>	<p>Cranberry Fruchtaufstrich 60% Frucht Zutaten: Zucker, Cranberrysaft aus Cranberrysaftkonzentrat (36%), Cranberrys (24%), Geliermittel Pektin, Säureregulator Trinatriumcitrat</p>

<p>54.</p> 	<p>BioBio Hergestellt für Netto Marken-Discount</p>	<p>Zutaten: Fruchtmischung 55% (in veränderlichen Gewichtsanteilen Erdbeeren, Cranberry, Apfelmark), Rohrohrzucker 37%, Apfeldicksaft, Geliermittel: Apfelpektin, Säuerungsmittel Citronensäure, Säureregulator Calciumcitrat.</p>
<p>55.</p> 	<p>Aldi Nord</p>	<p>Cranberry Fruchtaufstrich 60% Frucht Zutaten: Zucker, Cranberrysaft aus Cranberrysaftkonzentrat (36%), Cranberrys (24%), Geliermittel Pektin, Säureregulator Trinatriumcitrat</p>
<p>56.</p> 	<p>Baxter Food Group, Schottland, IV32 7LD Importiert von: Dunekacke & Willms Nachf. GmbH & Co. KG, 22041 Hamburg</p>	<p>Cranberry-Sauce Ingridients: Water, Sugar, Cranberrys (29%), Citric Acid, Gelling Agent (Pectin), Natural Colour (Anthocyanin), Preservative (Potassium Sorbate), Acidity Regulator (Sodium Citrate) Übersetzung: Preiselbeeren-Sauce Zutaten: Preiselbeeren (31%), Zucker, Wasser, konzentrierter Johannisbeeresaft, Zitronensaft, konzentrierter Holunderbeersaft Juicy North American Cranberrys make this a delicious sauce. Perfect with turkey or roast duck. It's also a wonderful addition to lunchtime wraps</p>
<p>57.</p> 	<p>Maintal Konfitüren GmbH, D-97437 Hassfurt/ Main</p>	<p>Zutaten: Cranberrysaft*, Rohrohrzucker*, Zitronensaft*, Geliermittel Apfelpektin Hergestellt aus 55 g Früchten je 100 g. Gesamtzuckergehalt 56 g je 100 g * = aus kontrolliert biologischem Anbau</p>
<p>58.</p> 	<p>Hergestellt in Frankreich: St. Dalfour, imported through KHS- Food GmbH</p>	<p>Fruchtaufstrich aus Cranberrys (25%) und Heidelbeeren (25%)</p>
<p>59.</p> 	<p>Maintal Konfitüren GmbH, D-97437 Hassfurt/ Main</p>	<p>Konfitüre extra Zutaten: Cranberries, Zucker, Glukosesirup, Geliermittel Pektin, Säuerungsmittel Citronensäure Hergestellt aus 45 g Früchten je 100 g Gesamtzuckergehalt 63 g je 100 g</p>

Eingelegte Beeren		
60. 	Hergestellt für Rewe-Handelsgruppe GmbH, D-50603 Köln	Cranberrys, stark gezuckert Zutaten: Cranberrys (Kulturpreiselbeeren), Zucker, Wasser
61. 	Hergestellt für Rewe-Handelsgruppe GmbH, D-50603 Köln	Wild-Preiselbeeren, gezuckert Zutaten: Wildpreiselbeeren (50%), Zucker, Geliermittel Pektin, Säuerungsmittel Citronensäure
62. 	Lidl Stiftung & Co. KG, Stiftsbergstr. 1, D- 74167 Neckarsulm	Wildpreiselbeeren Zutaten: Wildpreiselbeeren 50%, Zucker 40%, Geliermittel: Pektin, Säuerungsmittel: Citronensäure
63. 	Lee Coffee & Tea Germany GmbH lizenzierte Marken, Odenwald-Früchte GmbH, 64747 Breuberg	Wild-Preiselbeeren mit einer Zuckerart (Fruktose) und Süßungsmitteln Zutaten: Wildpreiselbeeren (40%), Wasser, Fruktose, Geliermittel: Pektin, Verdickungsmittel Johannisbrotkernmehl und Xanthan, färbendes Lebensmittel Mehrfruchtsaftkonzentrat, Festigungsmittel Calciumcitrat, Säuerungsmittel: Citronensäure, Süßstoffe Cyclamat und Saccharin
64. 	Seidel, D-53322 Bornheim/ Sechtem	Wildpreiselbeeren Zutaten: Preiselbeeren, Zucker, Geliermittel: Pektin, Säuerungsmittel: Citronensäure
65. 	Schweizer Sauerkrautfabrik GmbH, D-70794 Filderstadt Herkunft: Schweden (laut Internet)	Bio-Cranberrys Zutaten: Cranberrys*, Wasser, Agavendicksaft* * = Zutaten aus biologischem Anbau Durch die schonende Verarbeitung bleiben die Inhaltsstoffe weitestgehend erhalten

Müsliriegel		
<p>66.</p> 	<p>Nutrisum GmbH & Co. KG, D-21218 Seevetal</p>	<p>Müsliriegel mit gezuckerten und getrockneten Cranberries Zutaten: Geröstete Getreideflocken 31,4% (...), Glukosesirup, gezuckerten und getrockneten Cranberries 11,6% (Zucker 8,1%, Cranberries 3,1%, Säuerungsmittel...), Extrudat 11,4% (...), Cornflakes (...), Kokosfett, Stabilisator:..., Säuerungsmittel:..., natürliches Aroma, Emulgator:....</p>
<p>67.</p> 	<p>Schneekoppe GmbH & Co. KG, D-21244 Buchholz/ Nordheide</p>	<p>Müsliriegel mit original amerikanischen Cranberries Zutaten: Geröstete Getreideflocken (...), Glukos-Fructose-Sirup, getrocknete Cranberries 11% (Zucker, Cranberries, Säuerungsmittel...), Crispies (...), Rohrzucker, Cornflakes (...), Kokosfett, Honig, Stabilisator:..., Säuerungsmittel:..., Emulgator:..., Aroma, Salz</p>
<p>68.</p> 	<p>Granola Hergestellt für Penny Markt GmbH, D-50603 Köln</p>	<p>Müsli-Riegel Cranberry Zutaten: Vollkorn-Haferflocken, Getreideerzeugnis (...), Invertzuckersirup, Cornflakes (...), 7% getrocknete, gesüßte Cranberrystücke (51% Cranberries, Zucker, Sonnenblumenöl), Zucker, Palmfett, Maltodextrin, Honig, Säuerungsmittel:..., Aroma, Emulgator:...</p>
<p>69.</p> 	<p>Hergestellt für Netto Marken-Discount AG & Co. KG, 93142 Maxhütte-Haidhof</p>	<p>Getreideriegel mit Cranberrystückchen Zutaten: Glukos-Fruktose-Sirup, Hafervollkornflocken, 11% Cranberries (Zucker, Cranberries, pflanzliches Öl), Weizen-Reis-Extrudat (...), Cornflakes (...), Weizenvollkornflocken, Maltodextrin, pflanzliches Öl, Gerstenflocken, Apfelsaftkonzentrat, Honig, natürliches Aroma, Emulgator:..., Säuerungsmittel....</p>
<p>70.</p> 	<p>Dailycer Deutschland, Postfach 1660, D-21306 Lüneburg</p>	<p>Obst-Riegel mit Cranberry und Kirsch Zutaten: getrocknete Apfelstücke, Rosinen, Vollkorn-Haferflocken, Apfelsaftkonzentrat, Cornflakes (...), gesüßte Cranberrystücke (6%) (Cranberries (52%), Rohrzucker, pflanzliches Öl), Sauerkirschsftkonzentrat (4%), Honig, Inulin, Rote Beetesftpulver (...), Oblaten (...), Zitronensaftpulver (...), pflanzliches Fett, natürliches Aroma</p>

Nahrungsergänzungsmittel	
Produkt und Hersteller	Kennzeichnung/ Dosierungsangabe/Werbung
<p>1.</p>  <p>Abtei Pharma Vertriebs GmbH, Abtei 1, D-37696 Marienmünster</p>	<p>Nahrungsergänzungsmittel mit Kürbiskern-Extrakt, Cranberry-Konzentrat, Vitamin B₆, Biotin, Kupfer, Zink und Selen Pro 2 Kapseln 200 mg Cranberry-Konzentrat</p>
<p>2.</p>  <p>Altapharma Hergestellt für Dirk Rossmann GmbH, Isernhägener Str. 16, 30938 Burgwedel</p>	<p>Nahrungsergänzungsmittel mit Cranberry-Extrakt und Vitamin C Pro 2 Kapseln 360 mg Cranberry-Extrakt, davon 36 mg oligomere Proanthocyanidine (OPC)</p> <p>Die Cranberry (lat. <i>Vaccinium macrocarpon</i>) wurde schon bei den Ureinwohnern Amerikas aufgrund ihrer gesundheitsfördernden Eigenschaft sehr geschätzt. Sie ist die amerikanische Verwandte unserer europäischen Preiselbeere.</p> <p>altapharma Cranberry Plus Vitamin C unterstützt eine gesunde Blasen- sowie Harnwegsfunktion und versorgt den Körper mit dem Tagesbedarf an Vitamin C. Besonders bei Frauen aller Altersgruppen ist die Cranberry zur Stärkung des Harnwegssystems und Förderung des Wohlbefindens sehr beliebt.</p>
<p>3.</p>  <p>OmniVit Districon GmbH, Am Joseph 15, D-61273 Werheim (Penny)</p>	<p>Nahrungsergänzungsmittel enthält Cranberry Extrakt und Vitamin C Pro Kapsel 300 mg Cranberry-Extrakt (36:1); Tagesdosis 2 Kapseln</p> <p>Zur Unterstützung gesunder Harnwege. Cranberry ist die amerikanische Verwandte unserer Preiselbeere. Bereits die Ureinwohner schätzten sie nicht nur wegen ihres Nähr- und Genusswertes sondern auch wegen ihrer gesundheitsfördernden Eigenschaften, die auf ihre natürlichen Inhaltsstoffe, die Proanthocyanidine, zurückzuführen sind. OmniVIT Cranberry-Harnwege-Vital-Kapseln mit natürlichem Cranberry Extrakt und Vitamin C können einen wertvollen Beitrag zur Unterstützung gesunder Harnwege für Frauen in jeder Lebensphase leisten.</p>
<p>4.</p>  <p>MCM Klosterfrau, D-50606 Köln</p>	<p>Cranberry Heiß- & Kaltgetränk Nahrungsergänzungsmittel mit Vitamin C und dem Mineralstoff Zink 120 mg Extrakt aus bis zu 8.400mg Cranberries pro Tag</p> <p>Im Sommer fordern schwülwarme und im Winter nasskalte Temperaturen das Immunsystem heraus. Mit einer „Unterkühlung“ der Blase steigt auch die Gefahr für verschiedene Beschwerden.</p> <p>Wichtig für eine gesunde Blasenfunktion ist eine ausreichende Flüssigkeitszufuhr, um u.a. die Harnwege und die Blase gut durchzuspülen.</p> <p>Mit dem wohlschmeckend fruchtigen Klosterfrau Cranberry Heiß- & Kaltgetränk können sie sich schnell und einfach 2-fach etwas Gutes tun: Sie fördern die Durchspülung der Harnwege und nutzen den positiven Effekt von Vitamin C und Zink auf das Immunsystem.</p>

<p>5.</p>  <p>Ruhrpharm AG, D-33739 Bielefeld</p>	<p>Nahrungsergänzungsmittel: Cranberry-Extrakt, Preiselbeerfruchtpulver, Spargelwurzel-Trockenextrakt und Vitamin C</p> <p>Zutaten: Cranberry-Extrakt (19,5%), Preiselbeerfruchtpulver (19,5%), Spargelwurzelextrakt (19,5%),.....</p> <p>Tagesdosis: 2 Tabletten mit 400 mg Cranberry-Extrakt, 400 mg Preiselbeerfruchtextrakt</p> <p>Cranberry-Extrakt, Preiselbeerfruchtpulver enthalten Proanthocyanine,..... Diese können sich an Bakterien anlagern und so das Anheften der Bakterien an die Zelle der ableitenden Harnwege verhindern. Die Bakterien werden nicht abgetötet, sondern beim Wasserlassen einfach aus der Blase herausgespült. Preiselbeeren enthalten Chinin- und Hippursäure, die den Urin ansäuern und somit ein unangenehmes Milieu für das Bakterienwachstum schaffen.</p>
<p>6.</p>  <p>Hergestellt für: Dm-drogerie markt, Carl-Metz-Straße 1, D-76185 Karlsruhe</p>	<p>Nahrungsergänzungsmittel, Pro 2 Kapseln 600 mg Cranberry-Extrakt, enthält 36 mg Proanthocyanidine</p> <p>Das gesunde Plus Cranberry Kapseln mit Vitamin C enthalten einen Cranberry-Extrakt mit einem hohen Anteil an Proanthocyanidinen (sekundäre Pflanzenstoffe) und unterstützen so eine gesunde Blasenfunktion und fördern damit das Wohlbefinden und Gesundheit.</p> <p>Die Cranberry (<i>Vaccinium macrocarpon</i>) ist eng verwandt mit der europäischen Preiselbeere und stammt ursprünglich aus Nordamerika. Bereits die in Nordamerika ansässigen Indianer schätzten die Cranberry schon vor hunderten von Jahren wegen ihrer gesundheitsfördernden Eigenschaften und der Unterstützung einer gesunden Blasenfunktion. Vor allem Frauen wissen, wie wichtig eine gesunde Blase ist und schätzen die ernährungsspezifische Unterstützung durch eine Nahrungsergänzung mit Cranberry-Extrakt.</p>
<p>7.</p>  <p>Inter Pharm Arzneimittel GmbH, Kurt-Schumacher-Straße 6 D-44534 Lünen</p>	<p>Nahrungsergänzungsmittel</p> <p>Tagesdosis 2 Kapseln</p> <p>Pro Kapsel, 150 mg Kürbisextrakt, 50 mg Cranberrykonzentrat davon Anthocyanidine 3 mg</p> <p>Zutaten: Kürbiskern-Extrakt, Inulin, Gelatine, Cranberry-Konzentrat (10%), Füllstoffe:....., Trennmittel:....., Säureregulator:....., Farbstoffe:.....</p> <p>Cranberrys enthalten eine Vielzahl an sekundärer Pflanzenstoffe. Hierzu zählen unter anderem die wichtigen Proanthocyanidine. Diese unterstützen die natürliche Widerstandskraft der Blase</p>
<p>8.</p>  <p>Hergestellt in Deutschland (Für Aldi): Krüger GmbH & Co. KG, Senefelderstraße 44, D-51469 Bergisch-Gladbach</p>	<p>Nahrungsergänzungsmittel mit Proanthocyanidinen aus Cranberry-Extrakt und Vitamin C</p> <p>Zutaten: Zucker, Säuerungsmittel, Cranberry-Extrakt (2%), natürliches Aroma, Rote Bete Saftpulver (Maltodextrin, Rote Bete Saftkonzentrat), natürliches schwarze Johannisbeeren Aroma, Trennmittel Siliciumdioxid</p> <p>Pro Sachet (6 g): 36 mg Proanthocyanidine</p> <p>Die in den Cranberrys enthaltenen Proanthocyanidine verhindern das Anheften von bestimmten E. coli in den Harnwegen und tragen so zur Gesunderhaltung der Blase bei. Schon ein Beutel Multinorm Cranberry Pulver entspricht der von der AFFSA (französische Agentur für Lebensmittelsicherheit) empfohlene Menge von 36 mg Proanthocyanidinen pro Tag.</p>

<p>9.</p>  <p>Quiris Healthcare GmbH, Am Kreuzkamp 5-7, 33334 Gütersloh</p>	<p>Nahrungsergänzungsmittel , Kapseln mit Cranberry- und Kürbiskern-Extrakten</p> <p>Eine Kapsel enthält: 300 mg Cranberry-Extrakt vm36, 100 mg Kürbiskern-Extrakt cp14, 20 mg Vitamin C.</p> <p>Dosierung: 1 Kapsel morgens, mittags und abends</p> <p>Die regelmäßige Einnahme von Cystorenal® Cranberry-Extrakt trägt dazu bei, dass sich Bakterien nicht mehr so leicht an der Blasenwand festsetzen können. Durch diesen “Antihaft-Effekt” wandern sie beim Wasserlassen einfach in die Toilette.</p>
<p>10.</p>  <p>Queisser Pharma GmbH & Co. KG, Schleswiger Str. 74 24941 Flensburg</p>	<p>Nahrungsergänzungsmittel: Cranberry + Kürbis + Vitamin C + Selen Kapseln</p> <p>Eine Kapsel enthält: 300 mg Cranberry-Saftpulver, 200 mg Kürbiskern-Extrakt, 40 mg Vitamin C, 15 µg Selen</p> <p>Zutaten: Cranberry-Saftpulver, Maltodextrin, Dicalciumphosphat, Kürbiskern-Extrakt, Gelatine (Rind), Vitamin C, Magnesiumsalze von Speisefettsäuren, Siliciumdioxid, Titandioxid, Natriumselenit</p> <p>Die Cranberry (<i>Vaccinium macrocarpon</i>) wird auch als „Große Moosbeere“ oder Kranichbeere bezeichnet.....</p> <p>Für Frauen und Männer gleichermaßen ist eine gesunde Blasenfunktion für einen unbeschwerten und aktiven Alltag von Bedeutung.</p>

A.8 Massenspuren Fruchtsäfte

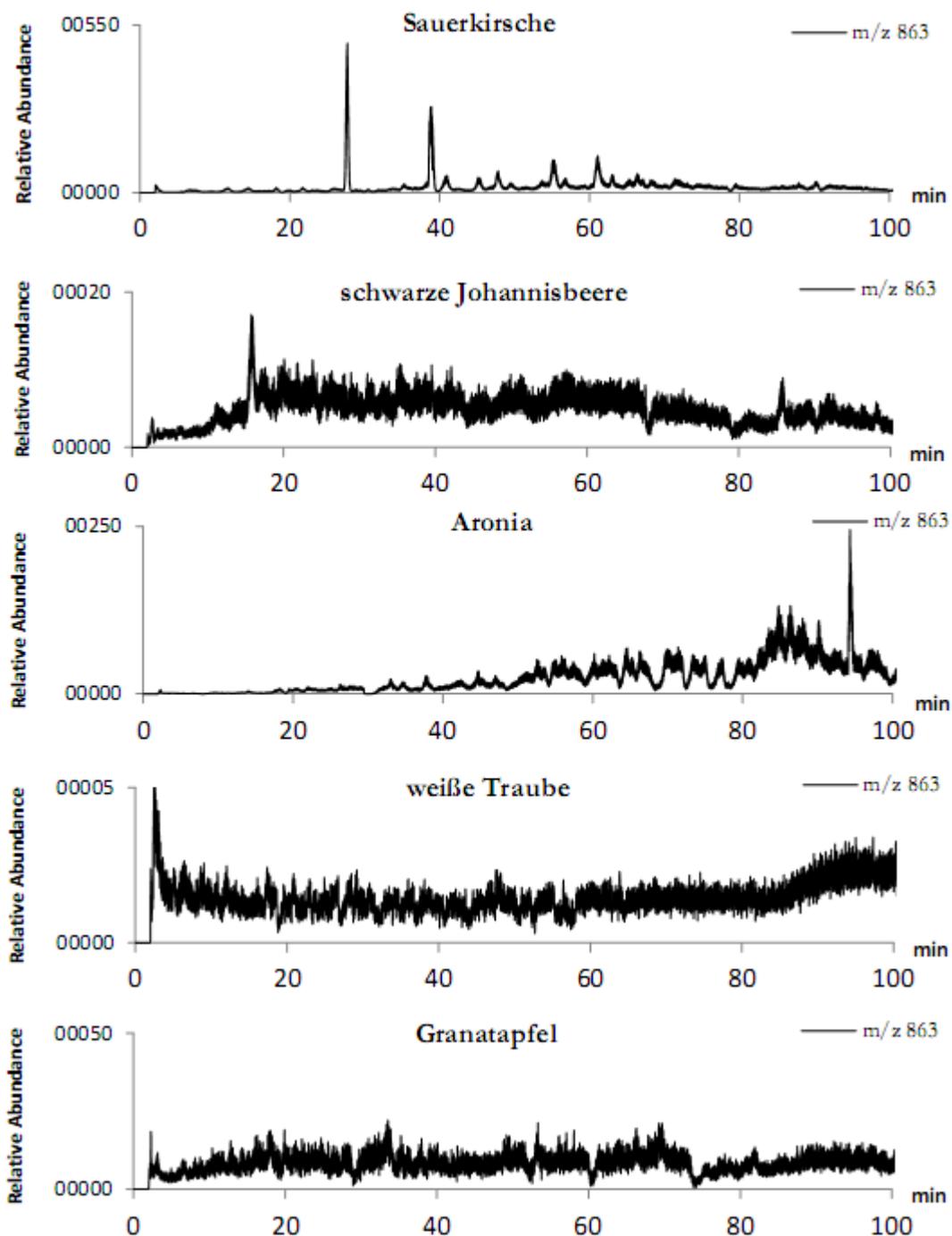


Abbildung 52: Massenspuren $m/z = 863$ von unterschiedlichen Fruchtsäften, die neben der Cranberry in Fruchtsaftmischungen verwendet werden

Die Peaks in der Sauerkirsche zeigen keine Fragmente, die typisch für die A-Typ Trimere sind.

LITERATURVERZEICHNIS

- A.I.J.N. (o. D.). *Aktueller Marktreport 2010 des europäischen Fruchtsaft-Verbandes*, AIJN, veröffentlicht. (Europäischer Fruchtsaftverband) Abgerufen am 23. August 2012 von http://www.fruchtsaft.org/index.php?menu_sel=17&menu_sel2=22&menu_sel3=&menu_sel4=&msg=455
- Aaby, K., Mazur, S., Nes, A., & Skrede, G. (2012). Phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits: composition in 27 cultivars and changes during ripening. *Food Chem.*, 132, S. 86-97.
- Andersen, O. M. (1989). Anthocyanins in fruits of *Vaccinium oxycoccus* L. (small cranberry). *J. of Food Sci.*, 54(2), S. 383-387.
- Ansari, M. M., & Kumar, D. S. (2012). Fortification of food and beverages with phytonutrients. *Food Pub. Health.*, 2, S. 241-253.
- Anttonen, M. J., & Karjalainen, R. O. (2005). Environmental and genetic variation of phenolic compounds in red raspberry. *J. Food Comp.*, S. 759-769.
- Appeldoorn, M. M., Vincken, J.-P., Gruppen, H., & Hollmann, P. C. (2009). Procyanidin dimers A1, A2, and B2 are absorbed without conjugation or methylation from the small intestine of rats. *J. Nutr.*, 139, S. 1469-1473.
- Armstrong, C. (o. D.). *Cooperative Extension: Cranberries*. (University of Maine) Abgerufen am 14. Oktober 2012 von Cranberry agriculture in Maine: <http://umaine.edu/cranberries/>
- Avorn, J., Monane, M., Gurwitz, J. H., Glynn, R. I., Choodnovskiy, I., & Lipsitz, L. A. (1994). Reduction of bacteriuria and pyuria using cranberry juice-reply. *J. Am. Med. Ass.*, 272 (8), S. 589-590.
- Bauer, T., Weller, P., Hammes, P. W., & Hertel, C. (2003). The effect of processing parameters on DNA degradation in food. *Eur. Food Res. Technol.*, 217, S. 338-343.
- Bäumler, S. (2006). *Heilpflanzen Praxis heute: Porträts, Rezepturen, Anwendung*. München: Elsevier, Urban & Fischer Verlag.
- Beecher, G. R. (2003). Proceedings of the third international scientific symposium on the tea and human health: Role of Flavonoids in the Diet. Overview of dietary flavonoids: Nomenclature, occurrence and intake. *J. Nutr.*, 133, S. 3248S-3254S.
- Bilyk, A., & Sapers, G. M. (1986). Varietal differences in the quercetin, kaempferol, and myricetin contents of highbush blueberry, cranberry, and thornless blackberry fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 34, S. 585-589.
- Blatherwick, N. R., & Long, M. L. (1923). Studies of Urinary tract acidity. II. The increased acidity produced by eating prunes and cranberries. *J. Biol. Chem.*, 57, S. 815-818.
- Bodel, P. T., Cotran, R., & Kass, E. H. (1959). Cranberry juice and antibacterial action of hippuric acid. *J. Lab. Clin. Med.*, 54, S. 881-888.
- Bodet, C., Chandad, F., & Grenier, D. (2007). Cranberry components inhibit interleukin-6, interleukin-8, and prostaglandin E2 production by lipopolysaccharide-activated gingival fibroblasts. *Eur. J. Oral. Sci.*, 115, S. 64-70.
- Bomser, J., Madhavi, D. L., Singletary, K., & Smith, M. A. (1996). In vitro anticancer activity of fruit extracts from *Vaccinium* species. *Planta Med.*, 62, S. 212-216.

- Borges, G., Degeneve, A., Mullen, A., & Crozier, A. (2010). Identification of flavonoid and phenolic antioxidants in black currants, blueberries, raspberries, red currants, and cranberries. *J. Agric. Food Chem.*, *58*, S. 3901-3909.
- Burt, L., & Penhallegon, R. (2003). *Economic Evaluation of Lingonberry Production in Oregon*. Abgerufen am 14. November 2012 von <http://extension.oregonstate.edu/catalog/pdf/em/em8847.pdf>
- Caruso, F. L., Bristow, P. R., & Oudemans, P. V. (November 2000). *APSnet Features*. Abgerufen am 14. Oktober 2012 von Cranberries: The Most Intriguing Native North American Fruit: <http://www.apsnet.org/publications/apsnetfeatures/pages/cranberries.aspx>
- Chen, H., Zuo, Y., & Deng, Y. (2001). Separation and determination of flavonoids and other phenolic compounds in cranberry juice by high-performance liquid chromatographie. *J. Chromatogr. A*, *913*, S. 387-395.
- Cho, M. J., Howard, L. R., Prior, R. L., & Clark, J. R. (2005). Flavonol glycosides and antioxidant capacity of various blackberry and blueberry genotypes determined by high-performance liquid chromatography/ mass spectrometry. *J. Sci. Food Agric.*, *85*, S. 2149-2158.
- Chu, N. T., Clydesdale, F. M., & Francis, F. J. (1973). Isolation and identification of some fluorescent phenolic compounds in cranberries. *J. Food Sci.*, *38*, S. 1038-1043.
- Chu, W.-K., Cheung, S. C., Lau, R. A., & Benzie, I. I. (2011). Billberry (*Vaccinium myrtillus* L.). In W.-G. S. Benzie I. F. F., *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects* (2. Ausg.). Boca Raton (FL): CRC Press.
- Clifford, M. N. (2000). Anthocyanins – nature, occurrence and dietary burden. *J. Sci. Food Agric.*, *80*, S. 1063-1072.
- Clifford, M. N. (1999). Chlorogenic acids and other cinnamates - nature, occurrence and dietary burden (review). *J. Sci. Food Agric.*, *79*, S. 362-372.
- Clifford, M. N., Johnston, K. L., Knight, S., & Kuhnert, N. (2003). Hierarchical scheme for LC-MSn identification of chlorogenic acids. *J. Agric. Food Chem.*, *51*, S. 2900-2911.
- Clifford, M. N., Kirkpatrick, J., Kuhnert, N., Roozendaal, H., & Rodrigues Salgado, P. (2008). LC-MSn analysis of the cis isomers of chlorogenic acids. *Food Chem.*, *106*, S. 379-385.
- Clifford, M. N., Knight, S., & Kuhnert, N. (2005). Discriminating between the six isomers of dicaffeoylquinic acid by LCM-MSn. *J. Agric. Food Chem.*, *53*, S. 3821-3832.
- Clifford, M. N., Marks, S., Knight, S., & Kuhnert, N. (2006). Characterization by LC-MSn of four new classes of p-coumaric acid-containing diacyl chlorogenic acids in green coffee Beans. *J. Agric. Food Chem.*, *54*, S. 4095-4101.
- Coppola, E. D., Conrad, E. C., & Cotter, R. (1978). High pressure liquid chromatographic determination of major organic acids in cranberry juice. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, *61*(6), S. 1490-1492.
- Cranberry Marketing Committee. (2012). *Industry News*. Abgerufen am 28. August 2012 von Germany International Market Report - Q2 2012: http://www.uscranberries.com/suppliers/industry_news/9/Germany%20Marketing%20Reports.html
- Crozier, A., Jaganath, I. B., & Clifford, M. N. (2009). Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health, review. *Nat. Prod. Rep.*, *26*, S. 1001-1043.
- Cuyckens, F., & Claeys, M. (2004). Mass spectrometry in the structural analysis of flavonoids. *J. Mass. Spectrom.*, *39*, S. 1-15.

- da Silva, M. F. (2010). The EU regulation on nutrition and health claims: current and future trends. 27. *annual Conference of the National Agricultural Biotechnology Council* (S. 155-172). Ithaca, New York 14853: National Agricultural Biotechnology Council.
- Déprez, S., Brezillon, C., Rabot, S., Philippe, C., Mila, I., Lapierre, C., et al. (2000). Polymeric proanthocyanidins are catabolized by human colonic microflora into low-molecular-weight phenolic acids. *J. Nutr.*, 130, S. 2733-2738.
- Déprez, S., Mila, I., Huneau, J.-F., Tome, D., & Scalbert, A. (2001). Transport of proanthocyanidin dimer, trimer, and polymer across monolayers of human intestinal epithelial Caco-2 cells. *Antioxid. Redox Signal.*, 3, S. 957-967.
- Di Martino, P., Agniel, R., David, K., Templer, C., Gaillard, L. J., Denys, P., et al. (2006). Reduction of *Escherichia coli* adherence to uroepithelial bladder cells after consumption of cranberry juice: a double-blind randomized placebo-controlled cross-over trial. *World J. Urol.*, 24, S. 21-27.
- Dierking, W., & Dierking, S. (1993). European *Vaccinium* Species. *Acta Hort. (ISHS)*, S. 299-304.
- Dinda, B., Debnath, S., & Harigaya, Y. (2007). Naturally Occurring Iridoids. A Review, Part 1. *Chem. Pharm. Bull.*, 55(2), S. 159-222.
- Dixon, R. A., Xie, D.-Y., & Sharma, S. B. (2005). Proanthocyanidins – a final frontier in flavonoid research? *New Phytologist*, 165, S. 9-28.
- Drathschmidt, K., & Zechner, L. (1938). Vorkommen und Verteilung des Arbutins in der Preiselbeerpflanze. (*Vaccinium vitis idaea* L.). *Archiv der Pharmazie*, 8, S. 492-505.
- Eck, P. (1990). *The American Cranberry*. New Brunswick, USA: Rutgers University Press.
- EFSA. (2009). Scientific substantiation of a health claim related to ocean Spray Cranberry Products® and urinary tract infection in women pursuant to article 14 of regulation (EC) no. 1924/ 2006 (Question no EFSA-Q-2008-117). *The EFSA Journal*, 9(3), S. 1-15.
- EFSA. (2011). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to proanthocyanidins from cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Aiton) fruit and defence against bacterial pathogens in the lower urinary tract (ID 1841, 2153, 2770, 3328), “powerful protectors”. *The EFSA Journal*, 9(6), S. 2215-2233.
- Ehala, S., Vaher, M., & Kaljurand, M. (2005). Characterization of phenolic profiles of northern European berries by capillary electrophoresis and determination of their antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.*, 53, S. 6484-6490.
- Ek, S., Kartimo, H., Matilla, S., & Tollonen, A. (2006). Characterization of phenolic compounds from lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea*). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54, S. 9834-9842.
- Engelhardt, U., & Galensa, R. (1997). Analytik und Bedeutung von Polyphenolen in Lebensmitteln. In A. M. Bahadir, & e. al., *Analytiker Taschenbuch 15* (S. 147-178). Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- Engemann, A., Hübner, F., Rzeppa, S., & Humpf, H.-U. (2012). Intestinal metabolism of two A-type procyanidins using the pig cecum model: detailed structure elucidation of unknown catabolites with fourier transform mass spectrometry (FTMS). *J. Agric. Food Chem.*, 60, S. 749-757.
- Escribano-Bailón, M. T., & Santos-Buelga, C. (2003). Chapter 1: Polyphenol extraction from foods. In C. Santos-Buelga, & G. Williamson, *Methods in polyphenol analysis* (S. 1-12). Cambridge: The Royal Society of Chemistry.
- Falcão, S. I., Domingues, M. R., Freire, C., Cardoso, S. M., & Vilas-Boas, M. (2012). Phenolic profiling of Portuguese propolis by LC-MS spectrometry: uncommon propolis rich in flavonoid glycosides. *Phytochem. Anal.*

- Feghali, K., Feldman, M., Dang La, V., Santos, J., & Grenier, D. (2012). Cranberry proanthocyanidins: natural weapons against periodontal diseases. *J. Agric. Food Chem.*, *60*, S. 5728-5735.
- Fellers, C. R., Redmon, B. C., & Parrott, E. M. (1933). Effect of cranberries on urinary acidity and blood alkaline reserve. *J. Nutr.*, *6*, S. 455-463.
- Flügel, R., Carle, R., & Schieber, A. (2005). Quality and authenticity control of fruit purees, fruit preparation and jams - a review. *Trends Food Sci. Technol.*, *16*, S. 433-441.
- Foo, L. Y., Lu, Y., Howell, A. B., & Vorsa, N. (2000b). A-type Procyanidins trimers from Cranberry that inhibit adherence of uropathogenic p-fimbriated E. coli. *J. Nat. Prod.*, *63*, S. 1225-1228.
- Foo, L. Y., Lu, Y., Howell, A. B., & Vorsa, N. (2000a). The structure of cranberry procyanidins which inhibit adherence of uropathogenic p-fimbriated Escherichia coli in vitro. *Phytochemistry*, S. 173-181.
- Franco, A. V. (2005). Recurrent urinary tract infections. *Best Pract. Res. Cl. Ob.*, *19* (6), S. 861-873.
- Friedrich, W., & Galensa, R. (2002). Identification of a new flavonol glucoside from barley (*Hordeum vulgare* L.) and malt. *Eur. Food Res. Technol.*, *214*, S. 388-393.
- Friedrich, W., Eberhardt, A., & Galensa, R. (2000). Investigation of proanthocyanidins by HPLC with electrospray ionization mass spectrometry. *Eur. Food Res. Technol.*, *211*, S. 56-64.
- Gao, L., & Mazza, G. (1994). Quantitation and distribution of simple and acylated anthocyanins and other phenolics in blueberries. *J. Food Sci.*, *59*, S. 1057-1059.
- Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., & Fernández-Guitérrez, A. (2010). Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples, Review. *Molecules*, *15*, S. 8813-8826.
- Garzón, G. A., Narváez, C. E., Riedl, K. M., & Schwartz, S. J. (2010). Chemical composition, anthocyanins, non-anthocyanin phenolics and antioxidant activity of wild bilberry (*Vaccinium meridionale* Swartz) from Colombia. *Food Chem.*, *122*, S. 980-986.
- Gavrilova, V., Kajdzanoska, M., Gjamovski, V., & Stefova, M. (2011). Separation, characterization and quantification of phenolic compounds in blueberries and red and black currants by HPLC-DAD-ESI-MSn. *J. Agric. Food Chem.*, *59*, S. 4009-4018.
- Gerichtsurteil, 13 U 194/ 09 (Oberlandesgericht Celle 5. Juni 2012).
- Ghosh, D., & Konishi, T. (2007). Anthocyanins and anthocyanin-rich extracts: role in diabetes and eye function. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, *16* (2), S. 200-208.
- Giusti, M. M., Rodriguez-Saona, L. E., Griffin, D., & Wrolstad, R. E. (1999). Electrospray and tandem mass spectrometry as tool for anthocyanin characterization. *J. Agric. Food Chem.*, *47*, S. 4657-4664.
- Grace, M. H., Massey, A. R., Mbeunkui, F., Yousef, G. G., & Lila, M. A. (2012). Comparison of health-relevant flavanoids in commonly consumed cranberry products. *J. Food Sci.*, *77*, S. H176-183.
- Griebel, C. (1. März 1910). Beitrag zur Kenntnis der chemischen Zusammensetzung der Preiselbeeren, Moosbeeren und Kranberren. *Zeitschrift f. Untersuchung d. Nähr- und Genußmittel*, *19. Band, Heft 5*, S. 242-252.
- Griebel, C. (18. Mai 1924). Die Unterscheidung der einheimischen und amerikanischen Moosbeere in Zubereitungen. *Zeitschrift f. Untersuchung d. Nähr- und Genußmittel*, S. 228-232.
- Griebel, C. (15. Januar 1909). Über die Moosbeere und ihren Nachweis in eingemachten Preiselbeeren. *Zeitschrift f. Untersuchung d. Nähr- und Genußmittel*, *17. Band, Heft 2*, S. 66-73.
- Gross, P. (2010). *The superfruits*. New York: McGraw Hill.

- Gruz, J., Novak, O., & Strnad, M. (2008). Rapid analysis of phenolic acids in beverages by UPLC-MS/MS. *Food Chem.*, *111*, S. 789-794.
- Gu, L., Kelm, A. M., Hammerstone, J. F., Zhang, Z., Beecher, G., Holden, J., et al. (2003a). Liquid chromatographic/ electrospray ionization mass spectrometric studies of proanthocyanidins in foods. *J. Mass Spectrom.*, *38*, S. 1272-1280.
- Gu, L., Kelm, M. A., Hammerstone, J. F., Beecher, G., Holden, J., Haytowitz, D., et al. (2004). Concentrations of proanthocyanidins in common foods and estimation of normal consumption. *J. Nutr.*, *134*, S. 613-617.
- Gu, L., Kelm, M. A., Hammerstone, J. F., Beecher, G., Holden, J., Haytowitz, D., et al. (2003b). Screening of foods containing proanthocyanidins and their structural characterization using LC-MS/MS and thiolytic degradation. *J. Agric. Food Chem.*, *51*, S. 7513-7521.
- Gu, L., Kelm, M., Hammerstone, J. F., Beecher, G., Cunningham, D., Vannozzi, S., et al. (2002). Fractionation of polymeric procyanidins from lowbush blueberry and quantification of procyanidins in selected foods with an optimized normal-phase HPLC-MS fluorescent detection method. *J. Agric. Food Chem.*, *50*, S. 4852-4860.
- Guay, D. R. (2009). Cranberry and urinary tract infections. *Drugs*, *69* (7), S. 775-807.
- Gupta, K., Chou, M. Y., Howell, A., Wobbe, C., Grady, R., & Stapleton, A. E. (2006). Cranberry products inhibit adherence of p-fimbriated Escherichia Coli to primary cultured bladder and vaginal epithelial cells. *J. Urol.*, *177*, S. 2357-2360.
- Güttler, S. (2011). Adding value to Andean blueberries (*Vaccinium floribundum* Kunth) by processing healthy products as a contribution to food security in Ecuador - Development of concentrated clarified juice and powder juice with high contents of anthocyanins. *Diplomarbeit*. Universität Bonn.
- Haesaerts, G. (2010). Le dosage des proanthocyanidines (PAC) de cranberry dans les compléments alimentaires: enjeux et derniers développements. *Phytothérapie*, *8*, S. 218-222.
- Häkkinen, S. H., Kärenlampi, S. O., Heinonen, I. M., Mykkänen, H. M., & Törrönen, A. R. (1999b). Content of the flavonols quercetin, myricetin, and kaempferol in 25 edible berries. *J. Agric. Food Chem.*, *47* (6), S. 2274-2279.
- Häkkinen, S., Heinonen, M., Kärenlampi, S., Mykkänen, H., Ruuskanen, J., & Törrönen, R. (1999a). Screening of selected flavonoids and phenolic acids in 19 berries. *Food Reserch International*, *32*, S. 345-353.
- Harborne, J. B., & Corner, J. J. (1961). Plant polyphenols. 4. Hydroxycinnamic acid-sugar derivatives. *Biochem. J.*, *81*, S. 242-250.
- Hayasaka, Y., Waters, E. J., Cheynier, V., Herderich, M. J., & Vidal, S. (2003). Characterization of proanthocyanidins in grape seeds using electrospray mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, *17*, S. 9-16.
- He, F., Pan, Q.-H., Shi, Y., & Duan, C. Q. (2008). Biosynthesis and genetic regulation of proanthocyanidins in plants (Review). *Molecules*, *13*, S. 2674-2703.
- He, J., & Giusti, M. M. (2010). Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.*, *1*, S. 163-187.
- Hellström, J. K., Törrönen, A., & Mattila, P. H. (2009). Proanthocyanidins in common food products of plant origin. *J. Agric. Food Chem.*, *57*, S. 7899-7906.
- Hermann, K. (1976). Flavonols and flavones in food plants: a review. *J. Fd. Technol.*, *11*, S. 433-448.

-
- Hjalmarsson, I. (2001). Lingonberry: Botany and Horticulture. In J. Jannick, *Horticultural Reviews Volume 27* (S. 79-123). New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Hofsommer, H. J. (1988). Fruit juice adulteration workshop - ein Kurzbericht. *Flüssiges Obst, Jg. 55, Heft 9*, S. 498-508.
- Hokkanen, J., Mattila, S., Jaakola, L., Pirttilä, A. M., & Tolonen, A. (2009). Identification of phenolic compounds from lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.), bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and hybrid bilberry (*Vaccinium x intermedium* Ruthe L.) leaves. *J. Agric. Food Chem.*, *57*, S. 9437-9447.
- Hong, V., & Wrolstad, R. E. (1990). Use of HPLC separation/ photodiode array detection for characterization of anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.*, *38*, S. 708-715.
- Horbowicz, M., Kosson, R., Grzesiuk, A., & Debski, H. (2008). Anthocyanins of fruits and vegetables - their occurrence, analysis and role in human nutrition. *Veget. Crops Res. Bull.*, *68 (1)*, S. 5-22.
- Howell, A. B. (2007). Bioactive compounds in cranberry and their role in prevention of urinary tract infection. *Mol. Nutr. Food Res.*, *51*, S. 732-737.
- Howell, A. B. (2002). Cranberry proanthocyanidins and the maintenance of urinary tract health. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, *42*, S. 273-278.
- Howell, A. B., Botto, H., Combescure, C., Blanc-Potard, A.-B., Gausa, L., Matsumoto, T., et al. (2010). Dosage effect on uropathogenic *Escherichia coli* anti-adhesion activity in urine following consumption of cranberry powder standardized for proanthocyanidin content: a multimeric randomized blind study. *BMC Infectious Diseases*, *10*, S. 1-11.
- Howell, A. B., Maderosian, A. D., & Foo, L. Y. (1998). Inhibition of the adherence of p-fimbriated *Escherichia coli* to uroepithelial-cell surfaces by proanthocyanidin extracts from cranberries. *N. Engl. J. Med.*, *339*, S. 1085-1086.
- Howell, A. B., Reed, J. D., Krüger, C. G., Winterbottom, R., Cunningham, D. G., & Leahy, M. (2005). A-Type cranberry proanthocyanidins and uropathogenic bacterial anti-adhesion activity. *Phytochemistry*, *66*, S. 2281-2291.
- Ibrahim, R. K., Bruneau, A., & Bantignies, B. (1998). Plant O-methyltransferases: molecular analysis, common signature and classification. *Plant Mol. Biol.*, *36*, S. 1-10.
- Iwashina, T. (2000). The structure and distribution of the flavonoids in plants. *J. Plant Res.*, *113*, S. 287-299.
- Jaquemart, A.-L. (1997). *Vaccinium oxycoccus* L. (*Oxycoccus palustris* Pers.) and *Vaccinium microcarpum* (Turcz. ex Rupr.) Schmalh. (*Oxycoccus microcarpus* Turcz. ex Rupr.). *J. Ecology*, *85*, S. 381-396.
- Jensen, H. D., Krogfelt, K. A., Cornett, C., Hansen, S. H., & Christensen, S. B. (2002). Hydrophilic carboxylic acids and iridoid glycosides in the juice of American and European cranberries (*Vaccinium macrocarpon* and *V. oxycoccus*), lingonberries (*V. vitis-idaea*), and blueberries (*V. myrtillus*). *J. Agric. Food Chem.*, *50*, S. 6871-6874.
- Jepson, R. G., & Craig, J. C. (2008). Cranberries for preventing urinary tract infections (Cochrane review). *Cochrane Database of Systematic Reviews, Issue 1*.
- Jepson, R. G., Mihaljevic, L., & Craig, J. (2004). Cranberries for preventing urinary tract infections (Cochrane Review). (*Issue 1*). Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.
- Jovančević, M., Balijagić, J., Menković, N., Šavikin, K., Zdunić, G., Janković, T., et al. (2011). Analysis of phenolic compounds in wild populations of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) from Montenegro. *J. Med. Plants Res.*, *5*, S. 910-914.
-

- Juadjur, A., & Winterhalter, P. (2012). Development of a novel absorptive membrane chromatographic method for the fractionation of polyphenols from bilberry. *J. Agric. Food Chem.*, *60*, S. 2427-2433.
- Jungfer, E., Wollseifen, H. R., Zimmermann, B. F., & Galensa, R. (2011). Authentizitätsprüfung von Cranberry, Preiselbeere und Moosbeere mittels Polyphenolanalytik. *Lebensmittelchemie*, *65*, S. 140.
- Jungfer, E., Zimmermann, B. F., Ruttkat, A., & Galensa, R. (2012). Comparing procyanidins in selected *Vaccinium* species by UHPLC-MS2 with regard to authenticity and health effects. *J. Agric. Food Chem.*, *60*, S. 9688-9696.
- Kader, F., Rovel, B., Girardin, M., & Metche, M. (1996). Fractionation and identification of the phenolic compounds of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *Food Chem.*, *55*, S. 35-40.
- Kähkönen, M. P., Heinämäki, J., Ollilainen, V., & Heinonen, M. (2003). Berry anthocyanins: isolation, identification and antioxidant activities. *J. Sci. Food Agric.*, *83*, S. 1403-1411.
- Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., & Heinonen, M. (2001). Berry phenolics and their antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.*, *49*, S. 4076-4082.
- Kalt, W., & Dufour, D. (1997). Health functionality of blueberries. *Hort. Technol.*, *7*, S. 216-221.
- Kalt, W., MacKinnon, S., McDonald, J., Vinqvist, M., Craft, C., & Howell, A. (2008). Phenolics of *Vaccinium* berries and other fruit crops. *J. Sci. Food Agric.*, *88*, S. 68-76.
- Kalt, W., McDonald, J. E., Ricker, R. D., & Lu, X. (1999). Anthocyanin content and profile within and among blueberry species. *Can. J. Plant Sci.*, S. 617-623.
- Kalt, W., Ryan, D. A., Duy, J. C., Prior, R. L., Ehlenfeldt, M. K., & Kloet, S. P. (2001). Interspecific variation in anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity among genotypes of highbush and lowbush blueberries (*Vaccinium* Section *cyanococcus* spp.). *J. Agric. Food Chem.*, *49*, S. 4761-4767.
- Kelm, M. A., Johnson, J. C., Robbins, R. J., Hammerstone, J. F., & Schmitz, H. H. (2006). High-performance liquid chromatography separation and purification of Cacao (*Theobroma cacao* L.) procyanidins according to degree of polymerization using a diol stationary phase. *J. Agric. Food Chem.*, *54*, S. 1571-1576.
- Kim, B.-G., Sung, H. S., Chong, Y., Lim, Y., & Ahn, J.-H. (2010). Plant flavonoid O-methyltransferases: substrate specificity and application. *J. Plant Biol.*, *53*, S. 321-329.
- Kontiotari, T., Sundqvist, K., Nuutinen, M., Pokka, T., Koskela, M., & Uhari, M. (2001). Randomised trial of cranberry-lingonberryjuice and *Lactobacillus* GG drink for the prevention of urinary tract infections in women. *BMJ*, *322*, S. 1571-1573.
- Koponen, J. M., Happonen, A. M., Auriola, S., Kontkanen, H., Buchert, J., Poutanen, S., et al. (2008). Characterization and fate of black currant and bilberry flavonols in enzyme-aided processings. *J. Agric. Food Chem.*, *56*, S. 3136-3144.
- Koponen, J. M., Happonen, A. M., Mattila, P. H., & Törrönen, R. A. (2007). Contents of anthocyanins and ellagitannins in selected foods consumed in Finland. *J. Agric. Food Chem.*, *55*, S. 1612-1619.
- Krenn, L., Steitz, M., Schlicht, C., Kurth, H., & Gaedcke, F. (2007). Anthocyanin- and proanthocyanidin-rich extracts of berries in food supplements – analysis with problems. *Pharmazie*, *62*, S. 803-812.
- Krikorian, R., Shidler, M. D., Nash, T. A., Kalt, W., Vinqvist-Tymchuk, M. R., Shukitt-Hale, B., et al. (2010). Blueberry supplementation improves memory in older adults. *J. Agric. Food Chem.*, *58*, S. 3996-4000.

- Kylli, P., Nohynek, L., Puupponen-Pimiä, R., Westerlund-Wikström, B., Leppänen, T., Welling, J., et al. (2011). Lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea*) and European cranberry (*Vaccinium microcarpon*) proanthocyanidins: isolation, identifikation, and bioactivities. *J. Agric. Food Chem.*, *59*, S. 3373-3384.
- Laaksonen, O., Sandell, M., & Kallio, H. (2010). Chemical factors contributing to orosensory profiles of bilberry (*Vaccinium* fractions). *Eur. Food Res. Technol.*, *231*, S. 271-285.
- Lätti, A. K., Jaakola, L., Riihinen, K. R., & Kainulainen, P. S. (2010). Anthocyanin and flavonol variation in bog bilberries (*Vaccinium uliginosum* L.) in Finland. *J. Agric. Food Chem.*, *58*, S. 427-433.
- Lätti, A. K., Riihinen, K. R., & Kainulainen, P. S. (2008). Analysis of anthocyanin variation in wild populations of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) in Finland. *J. Agric. Food Chem.*, *56*, S. 190-196.
- Lee, J. (2012). Proanthocyanidin A2 purification and quantification of American Cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) products. *J. Func. Food.*, S. in press.
- Lipson, S. M., Sethi, L., Cohen, P., Gordon, R. E., Tan, I. P., Burdowski, A., et al. (2007). Antiviral effects on bacteriophages and rotavirus by cranberry juice. *Phytomed.*, *14*, S. 23-30.
- Lowenthal, M. S., Phillips, M. M., Rimmer, C. A., Rudnick, P. A., Simon-Manso, Y., Stein, S. E., et al. (2012). Developing qualitative LC-MS methods for characterization of *Vaccinium* berry standard reference materials. *Anal. Bioanal. Chem.*
- Luby, J. J., Ballington, J. R., Draper, A. D., Pliszka, K., & Austin, M. E. (1991). Blueberries and Cranberries (*Vaccinium*). *Acta Hort.*, *290*, S. 391-394.
- Lyons, M. M., Yu, C., Toma, R. B., Yeon Cho, S., Reiboldt, W., Lee, J., et al. (2003). Resveratrol in raw and baked blueberries and bilberries. *J. Agric. Food Chem.*, *51*, S. 5867-5870.
- Määttä-Riihinen, K. R., Kähkönen, M. P., Törrönen, A. R., & Heinonen, M. I. (2005). Catechins and Procyanidins in Berries of *Vaccinium* Species and Their Antioxidant Activity. *J. Agric. Food Chem.*, *53*, S. 8485-8491.
- Määttä-Riihinen, K. R., Kamal-Eldin, A., Mattila, P. H., Gonzáles-Paramás, A. M., & Törrönen, A. R. (2004). Distribution and contents of phenolic compounds in eighteen scandinavian berry species. *J. Agric. Food Chem.*, *52*, S. 385-393.
- Mane, C., Loonis, M., Juhel, C., Dufour, C., & Malien-Aubert, C. (2011). Food grade lingonberry extract: polyphenolic composition and in vivo protective effect against oxidative stress. *J. Agric. Food Chem.*, *59*, S. 3330-3339.
- Markakis, P. (1974). Anthocyanins and their stability in foods. *CRC Critical Reviews in Food Technology*, S. 437-456.
- Marwan, A. G., & Nagel, C. W. (1982). Identification of the hydroxycinnamic acids derivatives in cranberries. *J. Food. Sci.*, *47*, S. 774-778.
- Mattila, P., Hellström, J., & Törrönen, R. (2006). Phenolic acids in berries, fruits, and beverages. *J. Agric. Food Chem.*, *54*, S. 7193-7199.
- McKay, D. L., & Blumberg, J. B. (2007). Cranberries (*Vaccinium macrocarpon*) and cardiovascular diseases risk factors. *Nutr. Rev.*, *65* (11), S. 490-502.
- McKenna, D. J., Jones, K., & Hughes, K. (1998). *Botanical Medicines: The desk references for major herbal supplements* (2. Ausg.). USA: The Haworth Herbal Press.
- Mettke, T. (2003). Geschichte und Bedeutung des Lebensmittelrechts. In *Lebensmitrecht professionell* (S. 1-48). Hamburg: Behr's Verlag.

- Mikulic-Petkovsek, M., Slatnar, A., Stampar, F., & Veberic, R. (2012). HPLC-MSn identification and quantification of flavonol glycosides in 28 wild and cultivated berry species. *Food Chemistry*, *135*, S. 2138-2146.
- Morimoto, S., Nonaka, G.-I., & Nishioka, I. (1988). Tannins and related compounds LX. Isolation and characterization of Proanthocyanidins with a doubly-linked unit from *Vaccinium vitis-idaea* L. *Chem. Pharm. Bull.*, *36*, S. 33-38.
- Može, S., Polak, T., Gašperlin, L., Koron, D., Vanzo, A., Ulrih, N. P., et al. (2011). Phenolics in Slovenian bilberries (*Vaccinium myrtillus* L.) and blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *J. Agric. Food Chem.*, *59*, S. 6998-7004.
- Müller, D., Schantz, M., & Richling, E. (2012). High performance liquid chromatography analysis of anthocyanins in bilberries (*Vaccinium myrtillus* L.), Blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.), and corresponding juices. *J. Food Sci.*, *77*, S. C340-C346.
- Nakajima, J., Tanaka, I., Seo, S., Yamazaki, M., & Saito, K. (2004). LC/ PDA/ ESI-MS profiling and radical scavenging activity of anthocyanins in various berries. *J. Biomed. Biotechnol.*, *5*, S. 241-247.
- National Germplasm Resources Laboratory, B. M. (3. April 2012). *Germplasm Resources Information Network - (GRIN) [Online Database]*. Abgerufen am 4. April 2012 von USDA, ARS, National Genetic Resources Program. Beltsville, Maryland.: <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/splist.pl?18661>
- Neto, C. C. (2007). Cranberry and Its Phytochemicals: A Review of in vitro anticancer studies. *J. Nutr.*, *137*, S. 186S-193S.
- Neto, C. C., Krüger, C. G., Lamoureux, T. L., Kondo, M., Vaisberg, A. J., Hurta, R. A., et al. (2006). MALDI-TOF-MS characterization of proanthocyanidins from cranberry fruit (*Vaccinium macrocarpon*) that inhibit tumor cell growth and matrix metalloproteinase expression in vitro. *J. Sci. Food Agric.*, *86* (1), S. 18-25.
- Neto, C. C., Krüger, C. G., Lamoureux, T. L., Kondo, M., Vaisberg, A. J., Hurta, R. A., et al. (2005). MALDI-TOF MS characterization of proanthocyanidins from cranberry fruit (*Vaccinium macrocarpon*) that inhibit tumor cell growth and matrix metalloproteinase expression in vitro. *J. Sci. Food Agric.*, *86*, S. 18-25.
- Nonaka, G.-I., & Nishioka, I. (1982a). Tannins and related compound. VII. Phenylpropanoid-substituted epicatechins, cinchonains from *Cinchona succirubra*. *Chem. Pharm. Bull.*, *30*, S. 4268-4276.
- Nonaka, G.-I., Kawahara, O., & Nishioka, I. (1982b). Tannins related compounds. VIII. A new type of proanthocyanidin, cinchonains IIa and IIb from *Cinchona succirubra*. *Chem. Pharm. Bull.*, *30*, S. 4277-4282.
- Nowack. (2007). Prophylaxe von bakteriellen Infektionen mit Cranberrysaft - Wirkprinzip und Evidenz. *OM & Ernährung*, *118*, S. 19-24.
- Nowack, R., & Schmitt, W. (2008). Cranberry juice for prophylaxis of urinary tract infections - conclusions from clinical experience and research. *Phytomedicine*, *15*, S. 653-667.
- NRCS, U. (2012). *Plants Database*. Abgerufen am 4. April 2012 von Fact Sheets & Plant Guides: plants.usda.gov/factsheet/pdf/fs_vaco.pdf
- Nyman, A., & Kumpulainen, J. T. (2001). Determination of anthocyanidins in berries and red wine by high-performance liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, *49*, S. 4183-4187.
- Oancea, S., & Oprean, L. (2011). Anthocyanins, from biosynthesis in plants to human health benefits. *Acta Univ. Cib. Series E: Food Technology, Vol. XV, no.1*, S. 3-16.

-
- Obón, J. M., Díaz-García, M. C., & Castellar, M. R. (2011). Red fruit juice quality and authenticity control by HPLC. *J. Food Comp. Anal.*, *24* (6) , S. 760-771.
- Ocean Spray Cranberries Inc., O. S. (2012). *Ocean Spray*. Abgerufen am 17. Oktober 2012 von <http://www.oceansprayitg.de/>
- Oceanspray, International Inc.; (kein Datum). *www.oceanspray.com*. Abgerufen am 20. März 2012
- Ofek, I., Goldhar, J., Zafiri, D., Lis, H., Adar, R., & Sharon, N. (1991). Anti-Escherichia coli adhesin activity of cranberry and blueberry juices. *New Engl. J. Med.*, *324* , S. 324.
- Ohnishi, R., Ito, H., Kasajima, N., Kaneda, M., Kariyama, R., Kumon, H., et al. (2006). Urinary excretion of anthocyanins in humans after cranberry juice ingestion. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, *70* , S. 1681-1687.
- Ortega, N., Romero, M. P., Macià, A., Reguant, J., Anglès, N., Morelló, J. R., et al. (2010). Comparative study of UPLC-MS/MS and HPLC-MS/MS to determine procyanidins and alkaloids in cocoa samples. *Journal of Food Composition and Analysis*, *23* , S. 298-305.
- Ou, K., Percival, S. S., Zou, T., Khoo, C., & Gu., L. (2012). Transport of cranberry A-type procyanidin dimers, trimers, and tetramers across monolayers of human intestinal epithelial. *J. Agric. Food Chem.*, *60* , S. 1390-1396.
- Papagiannopoulos, M. (2008). Dissertation. *Optimierte Analyse von Flavonoiden mit HPLC-MS* . Universität Bonn.
- Papagiannopoulos, M., & Mellenthin, A. (2002). Automated sample preparation by pressurized liquid extraction - solid-phase extraction for the liquid chromatographic-mass spectrometric investigation of polyphenols in the brewing process. *J. Chromatogr. A*, *976* , S. 345-348.
- Papagiannopoulos, M., Wollseifen, H. R., Mellenthin, A., Haber, B., & Galensa, R. (2004). Identification and quantification of polyphenols in carob fruits (*Ceratonia siliqua* L.) and derived products by HPLC-UV-ESI/MSn. *J. Agric. Food Chem.*, *52* (12) , 3784-3791.
- Pappas, E., & Schaich, K. M. (2009). Phytochemicals of cranberries and cranberry products: characterization, potential health effects, and processing stability. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, *49:9* , S. 741-781.
- Patras, A., Brunton, N. P., O'Donnell, C., & Tiwari, B. K. (2010). Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanism and kinetics of degradation. *Food Sci. Technol.*, *21* , S. 3-11.
- Penhallegon, R. (2006). Lingonberry Production Guide for the Pacific Northwest. Extension Service Publication, PNW 583E, Oregon State University, Corvallis, OR. S. 1-11.
- Penhallegon, R. (2009). Lingonberry yields in the Pacific Northwest. *ISHS Acta Horticulturae 810: IX International Vaccinium Symposium* , S. 223-228.
- Pepenoe, H., King, S., Léon, J., Kalinowski, L., Vietmeyer, N., & Dafforn, M. (1989). Berries. In *Little-Known Plants of the Andes with Promise for Worldwide Cultivation* (S. 213-222). Washington D.C.: National Academy Press.
- Primetta, A. K., Jaakola, L., Ayaz, F. Z., Inceer, H., & Riihinen, K. R. (2013). Anthocyanin fingerprinting for authenticity studies of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.). *Food Control*, *30* , S. 662-667.
- Prior, L. P., & Gu, L. (2005). Occurrence and biological significance of proanthocyanidins in the American diet. *Phytochemistry*, *66* , S. 2264-2280.
-

- Prior, R. L., Cao, G., Martin, A., Sofic, E., McEwen, J., O'Brien, C., et al. (1998). Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. *J. Agric. Food Chem.*, *46*, S. 2686-2693.
- Prior, R. L., Fan, E., Ji, H., Howell, A. B., Nio, C., Payne, M. J., et al. (2010). Multi-laboratory validation of a standard method for quantifying procyanidins in cranberry powders. *J. Sci. Food Agr.*, *90*, S. 1473-1478.
- Prior, R. L., Lazarus, S. A., Cao, G., Muccitelli, H., & Hammerstone, J. F. (2001). Identification of procyanidins and anthocyanins in blueberries and cranberries (*Vaccinium* Spp.) using high-performance liquid chromatography/ mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, *49* (3), S. 1270-1276.
- Propson, R. (2012). Wissenschaftliche Abschlussarbeit. *Beurteilung der Authentizität verschiedener Cranberry- und Preiselbeerprodukte anhand ihrer Polyphenolprofile mittels HPLC-MS*. Universität Bonn.
- Puupponen-Pimiä, R., Nohynek, L., Alakomi, A.-L., & Oksman-Caldentey, K.-M. (2005). Bioactive berry compounds — novel tools against human pathogens. *Appl Microbiol Biotechnol*, *67*, S. 8-18.
- Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C., & Pouységu, L. (2011). Pflanzliche Polyphenole: chemische Eigenschaften, biologische Aktivität und Synthes. *Angew. Chem.*, *123*, S. 610-646.
- Rasmussen, S. E., Frederiksen, H., Krogholm, K. S., & Poulsen, L. (2005). Dietary proanthocyanidins: occurrence, dietary, intake, bioavailability, and protection against cardiovascular disease (Review). *Mol. Nutr. Food Res.*, *49*, S. 159-174.
- Raz, R., Chazan, B., & Dan, M. (2004). Cranberry juice and urinary tract infection. *Clinical Infectious Diseases*, *38*, S. 1413-1419.
- Reid, L. M., O'Donnell, C. P., & Downey, G. (2006). Recent technological advances for the determination of food authenticity. *Trends Food Sci. Technol.*, *17*, S. 344-353.
- Robbins, R. J. (2003). Phenolic acids in food: an overview of analytical methodology. *J. Agric. Food Chem.*, *51*, S. 2866-2887.
- Rodriguez-Mateos, A., Cifuentes-Gomez, T., Tabatabaee, S., Lecras, C., & Spencer, J. P. (2012). Procyanidin, anthocyanin, and chlorogenic acid contents of highbush and lowbush blueberries. *J. Agric. Food Chem.*, *60* (23), S. 5772-5778.
- Ronald, A. (2002). The etiology of urinary tract infection: traditional and emerging pathogens. *Am. J. Med.*, *113* (1A), S. 14S-19S.
- Rzeppa, S., Von Barga, C., Bittner, K., & Humpf, H.-U. (2011). Analysis of flavan-3-ols and procyanidins in food samples by reversed phase high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry (RP-HPLC-ESI-MS/ MS). *J. Agri. Food Chem.*, *59*, S. 10594-10603.
- Sánchez-Patán, F., Bartolomé, B., Martín-Alvarez, P. J., Anderson, M., Howell, A., & Monagas, M. (2012). Comprehensive assessment of the quality of commercial cranberry products. Phenolic characterization and in vitro bioactivity. *J. Agric. Food Chem.*, *60*, S. 3396-3408.
- Santos-Buelga, C., García-Viguera, C., & Tomás-Barberán, F. A. (2003). On-line identification of flavonoids by HPLC coupled to diode array detection, chapter 5. In *Methods in polyphenol analysis* (S. 92-127). Cambridge: The Royal Society of Chemistry.
- Sapers, G. M., & Hargrave, D. L. (1987). Proportions of individual anthocyanins in fruits of cranberry cultivars. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*

- Sarnoski, P. J., Johnson, J. V., Reed, K. A., Tanko, J. M., & O'Keefe, S. F. (2012). Separation and characterisation of proanthocyanidins in Virginia type peanut skins by LC–MSn. *Food Chem.*, *131*, S. 927-939.
- Scalbert, A. (1992). Quantitative methods for the estimation of tannins in plant tissues. In R. W. Hemmingway, & P. E. Laks, *Plant polyphenols: synthesis, properties, and significance* (S. 259-280). New York: Plenum Press.
- Schmidt, B. M., Howell, A. B., McEniry, B., Knight, C. T., Seigler, D., Erdman, J. W., et al. (2004). Effective separation of potent antiproliferation and antiadhesion components from wild blueberry (*Vaccinium angustifolium* Ait.) fruits. *J. Agric. Food Chem.*, *52*, S. 6433-6442.
- Schreckinger, E. M., Wang, J., Yousef, G., Lila, M. A., & Gonzales de Meija, E. (2010). Antioxidant capacity and in vitro inhibition of Adipogenesis and inflammation by phenolic extracts of *Vaccinium floribundum* and *Aristolelia chilensis*. *J. Agric. Food Chem.*, *58*, S. 8966-8976.
- Schütz, K., Kammerer, D. R., Carle, R., & Schieber, A. (2005). Charakterization of phenolic acids and flavonoids in dandelion (*Taraxacum officinale* WEB. ex WIGG.) root and herbs by high-performance liquid chromatography/ electrospray ionization mass spectrometry. *Rapid. Commun. Mass Spectrom.*, *19*, S. 179-186.
- Seeram, N. P. (2008). Berry fruits: compositional elements, biochemical activities, and the impact of their intake on human health, performance, and disease; Symposium. *J. Agric. Food Chem.*, *56*, S. 627-629.
- Seeram, N. P., Bourquin, L. D., & Nair, M. G. (2001). Degradation products of cyanidin glycosides from tart cherries and their bioactivities. *J. Agric. Food Chem.*, *49*, S. 4924-4929.
- Shoji, T., Masumoto, S., Moriichi, N., Akiyama, H., Kanda, T., Ohtake, Y., et al. (2006). Apple procyanidin oligomers absorption in rats after oral administration: analysis of procyanidins in plasma using the porter method and high-performance liquid chromatography/ tandem mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, *54*, S. 884-892.
- Singhal, R. S., Kulkarni, P. R., & Rege, D. V. (1997). *Handbook of Indices of Food Quality and Authenticity*. Cambridge, England: Woodhead Publishing Ltd.
- Sklenár, P. (2001). Diversity of zonal páramo plant communities in Ecuador. *Diversity and Distribution*, *7*, S. 113-124.
- Skrede, G., Wrolstad, R. E., & Durst, R. W. (2000). Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *J. Food Sci.*, *65*, S. 357-364.
- Slimestad, R. (2003). Flavonoids in buds and young needles of *Picea*, *Pinus*, and *Abies*. *Biochem. Syst. Ecol.*, S. 1247-1255.
- Smith, M. A., Marley, K. A., Seigler, D., Singletary, K. W., & Meline, B. (2000). Bioactive properties of wild blueberry fruits. *J. Food. Sci.*, *65* (2), S. 352-356.
- Sobota, A. E. (1984). Inhibition of bacterial adherence by cranberry juice: potential use for the treatment of urinary tract infections. *J. Urol.*, *131* (5), S. 1013-1016.
- Song, Q.-G., & Hancock, J. F. (2011). *Vaccinium*. In *Wild Crop Relatives - Genomic and Breeding Resources: Temperate Fruits*. Berlin-Heidelberg: Springer Verlag.
- Sticher, O. (2010). Isoprenoide als Inhaltsstoffe. In R. Hänsel, & O. Sticher, *Pharmakognosie - Phytopharmazie* (S. 738-828). Heidelberg: Springer Medizin Verlag.
- Sun, W., & Miller, J. M. (2003). Tandem mass spectrometry of the B-type procyanidins in wine and B-type dehydrocatechins in an antioxidant mixture of (+)-catechin and (–)-epicatechin. *J. Mass Spectrom.*, *38*, S. 438-446.

- Tarascou, I., Mazauric, J.-P., Meudec, E., Souquet, J.-M., Cunningham, D., Nojeim, S., et al. (2011). Characterization of genuine derived Cranberry proanthocyanidins by LC-ESI-MS. *Food Chem.*, 128, S. 802-810.
- Taruscio, T. G., Barney, D. L., & Exon, J. (2004). Content and profile of flavonoid and phenolic acid compounds in conjunction with the antioxidant capacity for variety of northwest Vaccinium berries. *J. Agric. Food Chem.*, 52, S. 3169-3176.
- Tomás-Barberán, F., & Clifford, M. N. (2000). Dietary hydroxybenzoic acid derivatives - nature, occurrence and dietary burden (review). *J. Sci. Food Agric.*, 80, S. 1024-1032.
- Trehane, J. (2004). *Blueberries, Cranberries and Other Vacciniums (Royal Horticultural Societyt Plant Collector Guide)*. Portland: R. E. Gough, Timber Press.
- Turner, A., Chen, S.-N., Nikolic, D., Van Breemen, R., Farnsworth, N. R., & Pauli, G. F. (2007). Coumaroyl iridoids and a depside from cranberry (*Vaccinium macrocarpon*). *J. Nat. Prod.*, 70, S. 253-258.
- USDA. (2007). Database for the flavonoid content of selected food. *Release 2.1*.
- USDA. (o. D.). *National Agricultural Statistic Service (NASS)*. Abgerufen am 24. August 2012 von Cranberry Forecast 2012: http://www.nass.usda.gov/Statistics_by_State/New_England/Publications/Special_Reports/index.asp
- USDA. (15. Februar 2011). *Natural Resources Conservation Service*. Abgerufen am 19. November 2012 von Plants Guide : <http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=VAOX>
- Vasco, C., Riihinen, K., Ruales, J., & Kamal-Eldin, A. (2009). Chemical composition and phenolic profile of Mortino (*Vaccinium floribundum* Kunth). *J. Agric. Food Chem.*, 57, S. 8274-8281.
- Verband der Deutschen Fruchtsaftindustrie, e. (o. D.). *Verband der deutschen Fruchtsaftindustrie*. (Verband der deutschen Fruchtsaftindustrie e.V.) Abgerufen am 12. November 2012 von http://www.fruchtsaft.org/index.php?menu_sel=13&menu_sel2=3
- Viskeliš, P., Rubinskienė, M., Jasutienė, I., Šarkinas, A., Daubaras, R., & Česonienė, L. (2009). Anthocyanins, antioxidative, and antimicrobial properties of American cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) and their press cakes. *Food Chem.*, 72, S. C157-C161.
- Vrhovsek, U., Masuero, D., & Palmieri, L. M. (2011). Identification and quantification of flavonol glycosides in cultivated blueberry cultivars. *J. Food Compos. Anal.*, 25 (1), S. 9-16.
- Vvedenskaya, I. O., Rosen, R. T., Guido, J. E., Russell, D. J., Mills, K. A., & Vorsa, N. (2004). Characterization of flavonols in cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) powder. *J. Agric. Food Chem.*, 52 (2), S. 188-195.
- Wallace, T. C., & Giusti, M. M. (2010). Evaluation of parameters that affect the 4-dimethylaminocinnamaldehyde assay for flavanols and proanthocyanidins. *J. Food Sci.*, 75 (7), S. C619-C625.
- Wang, C.-H., Fang, C.-C., Chen, N.-C., Liu, S. S.-H., Yu, P.-H., Wu, T.-Y., et al. (2012). Cranberry-containing products for prevention of urinary tract infections in susceptible populations - A systematic Review and Meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch. Intern. Med.*, 172 (13), S. 988-996.
- Wang, Y., Cata, F., Yang, Y., Roderick, R., & van Breemen, R. B. (2002). An LC-MS method for analyzing total resveratrol in grape juice, cranberry juice, and in wine. *J. Agric. Food Chem.* 2002, 50, S. 431-435.

- White, B. L., Howard, L. R., & Prior, R. L. (2011). Impact of different stages of juice processing on the anthocyanin, flavonol, and procyanidin contents of cranberries. *J. Agric. Food Chem.*, *59*, S. 4692-4698.
- Wollgast, J., Pallaroni, L., Agazzi, M.-E., & Anklam, E. (2001). Analysis of procyanidins in chocolate by reversed-phase high-performance liquid chromatography with electrospray ionisation mass spectrometric and tandem mass spectrometric detection. *J. Chromatogr. A*, *926*, S. 211-220.
- Wollseifen, H. R. (2009). Dissertation. *Flavonoidprofile in Früchten und Fruchtprodukten definierter Herkünfte*. Universität Bonn.
- Wu, X., & Prior, L. (2005). Systematic identification and characterization of Anthocyanins by HPLC-ESI-MS/MS in common foods in the united states: fruits and berries. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, *53*, S. 2589-2599.
- Wu, X., Beecher, G. R., Holden, J. M., Haytowitz, D. B., Gebhardt, S. E., & Prior, R. L. (2006). Concentrations of Anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. *J. Agric. Food Chem.*, *54*, S. 4069-4075.
- Xie, D.-Y., & Dixon, R. A. (2005). Proanthocyanidin biosynthesis – still more questions than answers? *Phytochemistry*, *66*, S. 2127–2144.
- Yan, X., Murphy, B. T., Hammond, G. B., Vinson, J. A., & Neto, C. C. (2002). Antioxidant activities and antitumor screening of extracts from cranberry fruit (*Vaccinium macrocarpon*). *J. Agric. Food Chem.*, *50*, S. 5844-5849.
- Zafiriri, D., Ofek, I., Adar, R., Pocino, M., & M., S. (1989). Inhibitory activity of cranberry juice on adherence of type 1 and type P fimbriated *Escherichia coli* to eucaryotic cells. *Antimicrob. Agents Chemother.*, *33*, S. 92-98.
- Zhang, L., Ma, J., Pan, K., Go, V. L., Chen, J., & You, W. (2005). Efficacy of cranberry juice on *Helicobacter pylori* infection: a double-blind, randomized placebo-controlled trial. *Helicobacter*, *10* (2), S. 139-145.
- Zheng, W., & Wang, S. Y. (2003). Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. *J. Agric. Food Chem.*, *51*, S. 502-509.
- Zhou, Y., & Singh, B. R. (2004). Effect of light on anthocyanin levels in submerged harvested cranberry fruit. *J. Biomed. Biotech.*, *5*, S. 259-263.
- Zimmermann, B. F., & Galensa, R. (2007). One for all - all for one: proof of authenticity and tracing of foods with flavonoids. *Eur. Food Res. Technol.*, *224*, S. 385-393.
- Zuo, Y., Wang, C., & Zhan, J. (2002). Separation, characterization, and quantitation of benzoic and phenolic antioxidants in American cranberry fruit by GC-MS. *J. Agric. Food Chem.*, *50*, S. 3789–3794.

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AFSSA	Agence française de sécurité sanitaire des aliments (französische Behörde für Lebensmittelsicherheit)
A.I.J.N.	European Fruit Juice Association
ASE	Accelerated Solvent Extraction
ASPEC	Automated sample preparation with extraction cartridges
AU	Einheiten der UV-Absorption
Äq	Äquivalente
CA	Kanada
CN	China
CoQA	Cumaroylchinasäure
CQA	Chlorogensäure/ Kaffeoylchinasäure
Cya-3-O-glu	Cyanidin-3-O-glucosid
Da	Dalton
DAD	Diodenarray-Detektion
DiCQA	Dikaffeoylchinasäure
DMSO	Dimethylsulfoxid
EFSA	European Food Safety Authority (europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit)
ESI	Elektrospray Ionisierung
FAO	Food and Agriculture Organisation
FG	Frischgewicht
FQA	Feruloylchinasäure
HMG	Hydroxymethylglutaryl
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (High Performance Liquid Chromatography)
HPLC-MS ⁿ	Kopplung von HPLC und MS
HPLC-UV/DAD	Kopplung von HPLC und UV und Diodenarray-Detektor
HWI	Harwegsinfektion
IFU	International fruit juice association
LFGB	Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch
MS	Massenspektrometer
<i>m/z</i>	Masse-Ladungsverhältnis
Malv-3-O-glu	Malvidin-3-O-glucosid
n.d.	nicht detektierbar
o.D.	ohne Datum
PACs	Proanthocyanidine
PL	Polen
PLE	Pressurized Liquid Extraction - Beschleunigte Lösungsmittelextraktion

RSK-Werte	Richtwerte und Schwankungsbreiten bestimmter Kennzahlen für Fruchtsäfte
RT	Retentionszeit
SPE	Solid Phase Extraction - Festphasenextraktion
TG	Trockengewicht
u. H.	unbekannte Herkunft
UHPLC	Ultrahochleistungsflüssigkeitschromatographie (Ultra High Performance Liquid Chromatography)
USDA	United States Department of Agriculture
WHO	World Health Organisation

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Anbaugelände der Cranberry (grau) in Amerika und Kanada (USDA, 2011).....	10
Abbildung 2: Verteilung der Cranberryproduktion in den USA in 2011 (USDA, o. D.)	11
Abbildung 3: A: Anzahl der unterschiedlichen Cranberryprodukte und Anteile verschiedener Produktgruppen, die innerhalb 2006-2012 in Deutschland auf den Markt gekommen sind.....	12
Abbildung 4: Je nach Konfiguration an C2 und C3 (asymmetrische Zentren) kommt es zur 2,3- <i>cis</i> oder 2,3- <i>trans</i> -Konfiguration. (-)-Epicatechin liegt meist in der 2,3- <i>cis</i> -Konfiguration vor und ist so die häufigste Elongationseinheit	19
Abbildung 5: Struktur unterschiedlicher A-Typ-Procyanidin-Dimere und eines B-Typ-Dimers	19
Abbildung 6: Struktur häufig vorkommender Flavonole	20
Abbildung 7: Struktur häufig vorkommender Hydroxyzimtsäuren	20
Abbildung 8: Struktur häufig vorkommender Hydroxybenzoesäuren	21
Abbildung 9: Lactolform des Iridodials	21
Abbildung 10: Struktur der bei Jensen et al. (2002) entdeckten Iridoide. Links 6,7-Dihydromonotropein; Rechts: Monotropein	21
Abbildung 11: Struktur des <i>cis</i> - und <i>trans</i> -Resveratrols	22
Abbildung 12: A: Anheftung von <i>E. coli</i> an die Uroepithelzellen durch Bindung der p-Fimbrien an die Glycoproteine und Glycosphingolipide der Zellmembran; B: Verhinderung der Anheftung von <i>E. coli</i> durch Cranberryprocyanidine.....	26
Abbildung 13: A-Typ-Procyanidine mit antiadhäsiver Wirkung (1) Epicatechin-(4 β →8, 2 β →O→7)-Epicatechin (Procyanidin A2), (2) Epicatechin-(4 β →6)-Epicatechin-(4 β →8, 2 β →O→7)-Epicatechin, (3) Epicatechin-(4 β →8)-Epicatechin-(4 β →8, 2 β →O→7)-Epicatechin, (4) Epicatechin-(4 β →8, 2 β →O→7)-Epicatechin-(4 β →8)-Epicatechin	26
Abbildung 14: Extraktionsausbeute verschiedener Analyten nach Extraktion mit unterschiedlichem Methanolanteil.....	31
Abbildung 15: Extraktionsausbeute verschiedener Flavonole bei unterschiedlicher Temperatur	32
Abbildung 16: Abhängigkeit der Struktur der Anthocyane vom pH-Wert (He & Giusti, 2010).....	33
Abbildung 17: Chromatogramme eines Heidelbeersaft-SPE-Eluats bei 280 nm und 520 nm ohne (A) und mit (B) Ionentauscher in der Kartusche aufgearbeitet	34
Abbildung 18: Elutionsverlauf von Cranberrysaft auf HR-XC-Kartuschen, Fraktion 1 = 0,5 mL; Fraktion 2-5 = 1 mL.....	35
Abbildung 19: Vergleich der HPLC-Chromatogramme eines Cranberrymuttersaftes vor und nach der Festphasenextraktion bei 280 nm	36

Abbildung 20: Vergleich der Massenspuren $m/z = 1151$ und $m/z = 575$ eines Cranberryextraktes	44
Abbildung 21: A - Abstand der Kohlenstoffisotope des einfach geladenen Ions des Dimers A2 $[M-H]^-$ bei $m/z = 575$ (Standard); B - Abstand der Kohlenstoffisotope eines doppelt geladenen Ions eines Tetramers (Cranberryextrakt Peak 1 Abbildung 20, S. 44) $[M-H]^{2-}$ mit $m/z = 575$	45
Abbildung 22: Quinon-Methid-Spaltung eines A-Typ-verknüpften Trimers mit unterschiedlicher Position der A-Typ Verknüpfung	47
Abbildung 24: MS ² -Spektrum eines Cinchonain I-Isomers (links) und eines Flavanolhexosids (rechts)	50
Abbildung 23: Struktur unterschiedlicher Cinchonaine: (1), (2) Cinchonain I-Isomere; (3) Cinchonain II-Isomer	50
Abbildung 25: Chromatogramme der Übergänge $m/z 575 \rightarrow 449$, $863 \rightarrow 573$ und $863 \rightarrow 575$ von Acetonextrakten der drei Beeren aus verschiedenen Standorten. Die Numerierung der Peaks bezieht sich auf Tabelle 6 (S. 57).....	55
Abbildung 26: Prozentuale Anteile der verschiedenen A-Typ-Trimere in Cranberrysorten, Moosbeere und Preiselbeere	56
Abbildung 27: Chromatogramme der Übergänge $m/z 289 \rightarrow 245$, $577 \rightarrow 289$ und $865 \rightarrow 577$ der Acetonextrakte der drei Beeren unterschiedlicher Standorte. Die Numerierung der Peaks bezieht sich auf Tabelle 9 (S. 63).....	60
Abbildung 28: HPLC-Chromatogramme von Cranberry, Moosbeere und Preiselbeere (CN, EU) bei 520 nm. Die Numerierung der Peaks bezieht sich auf Tabelle 10 (S. 66).....	64
Abbildung 29: Vergleich der Gesamtgehalte und der relativen Anteile an Anthocyanen in Cranberry, Moosbeere und Preiselbeere.....	69
Abbildung 30: Vergleich der HPLC-UV-Chromatogramme von Cranberry (a) und Moosbeere (b) bei 360 nm. Die Numerierung der Peaks bezieht sich auf Tabelle 14 (S. 72) (und Tabelle 30 im Anhang)	71
Abbildung 31: Vergleich der Massenspuren $m/z = 609$ von <i>V. macrocarpon</i> und <i>V. oxycoccus</i> mit der eines Rutinstandards	74
Abbildung 32: Vergleich eines Chromatogramms von chinesischen (a) und europäischen Preiselbeeren (b). Die Numerierung der Peaks bezieht sich auf Tabelle 15 (S. 75) (und Tabelle 31, S. 154 im Anhang)	75
Abbildung 33: UV Spektrum einer Hydroxybenzoesäure (A = Protocatechusäure) und zwei verschiedener Hydroxyzimtsäuren (B = Kaffeesäure, C = p-Cumarsäure).....	76
Abbildung 34: HPLC-UV Chromatogramm der Beerenextrakte bei 310 nm. Die Numerierung der Peaks bezieht sich auf Tabelle 16 (S. 80).....	79
Abbildung 35: Vergleich der Massenspuren von Cumaroyliridoidglykoside der drei <i>Vaccinium</i> -Spezies (1= <i>cis</i> -Form; 2 = <i>trans</i> -Form).....	82
Abbildung 36: HPLC-UV Chromatogramme von Heidelbeer- und Blaubeerextrakten bei 520 nm. Die Numerierung der Peaks bezieht sich auf Tabelle 18 (S. 91).....	90

Abbildung 37: Absolutgehalte und prozentuale Anteile individueller Anthocyane am Gesamtgehalt von Blau- und Heidelbeeren	94
Abbildung 38: Vergleich der Massenspur m/z 609 von Blaubeeren und Heidelbeeren mit der eines Rutin-Standards	97
Abbildung 39: HPLC-Chromatogramme bei 360 nm der Methanolextrakte von Heidelbeeren, wilden Blaubeeren und Kulturblaubeeren. Die Peaknumerierung bezieht sich auf Tabelle 21-24 (S. 98-101).....	103
Abbildung 40: HPLC-Chromatogramm bei 360 nm eines Methanolextrakte von Andenheidelbeeren. Die Numerierung der Peaks bezieht sich auf Tabelle 25 (S. 105).....	104
Abbildung 41: Isomere der Kaffeoylchinasäure	107
Abbildung 42: HPLC-Chromatogramme bei 310 nm der Methanolextrakte von Blau- und Heidelbeeren. Die Peaknumerierung bezieht sich auf Tabelle 26 (S. 111).....	110
Abbildung 43: Vorgeschlagener Fragmentierungsweg des Cumaroyl-6,7-dihydrumonotropeins im negativen Ionisierungsmodus in der Ionenfalle (modifiziert nach Hokkanen et al. (2009)). Das Cumaroylmonotropein fragmentiert analog	112
Abbildung 44: Vergleich der Chromatogramme von Blau- und Heidelbeeren bei 310 nm im Hinblick auf das Cumaroyliridoid	113
Abbildung 45: MS-Chromatogramme (Base Peak) sowie die Massenspur $m/z = 863$ der unterschiedlichen Fruchtsaftmischungen	115
Abbildung 46: Catechin/ Epicatechin- und A2-Kalibriergerade zur Quantifizierung der Procyanidine.....	127
Abbildung 47: Chromatogramm eines SPE-Eluates der Cranberrysorte Pilgrim analysiert auf einer Aqua-Säule.....	133
Abbildung 48: Chromatogramm eines SPE-Eluates der Cranberrysorte Pilgrim analysiert auf einer Isis-Säule	134
Abbildung 49: Chromatogramm eines SPE-Eluates der Cranberrysorte Pilgrim analysiert auf einer Zorbax-Säule.....	135
Abbildung 50: Chromatogramm eines SPE-Eluates der Cranberrysorte Pilgrim analysiert auf einer Polartec-Säule	136
Abbildung 51: Massenspuren der in Cranberrys und Moosbeeren zugeordneten Anthocyane.....	157
Abbildung 52: Massenspuren $m/z = 863$ von unterschiedlichen Fruchtsäften, die neben der Cranberry in Fruchtsaftmischungen verwendet werden	177

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Liste der Top 20 Superfrüchte nach (Gross, 2010).....	13
Tabelle 2: Substitutionsmuster der sechs in der Natur am häufigsten vorkommenden Anthocyane und deren Farbe und Absorptionsmaximum (He & Giusti, 2010).....	18
Tabelle 3: Charakteristische Absorptionsmaxima unterschiedlicher phenolischer Verbindungsgruppen	37
Tabelle 4: Im SRM-Modus gemessene Übergänge unterschiedlicher Flavan-3-ole	38
Tabelle 5: Fragmentierungsmuster der Flavanole der drei <i>Vaccinium</i> -Spezies und Anzahl der detektierten Stereoisomere	52
Tabelle 6: Gehalte von A2 in mg und der verschiedenen A-Typ-Trimere (<i>m/z</i> 863) in mg A2 Äq je 100 g frische Beeren, analysiert in den Aceton-Extrakten der <i>Vaccinium</i> -Spezies mittels UHPLC-MS im SRM-Modus	57
Tabelle 7: DMAC-Werte der unterschiedlichen <i>Vaccinium</i> -Beeren; mittels UHPLC-MS gemessenen A-Typ-Procyanidin-Gehalte in mg (A2 Äq)/ 100 g FG und deren prozentualer Anteil.....	58
Tabelle 8: Überblick über die Unterschiede zwischen den drei <i>Vaccinium</i> -Spezies in Bezug auf die Flavan-3-ole	62
Tabelle 9: Gehalte von Monomeren in mg sowie der verschiedenen B-Typ Trimere (<i>m/z</i> 865) und Dimeren (<i>m/z</i> 577) in mg A2 Äq je 100 g FG, analysiert in den Aceton-Extrakten der <i>Vaccinium</i> -Spezies mittels UHPLC-MS im SRM-Modus	63
Tabelle 10: Massenspektrometrische Daten zur Identifizierung der Anthocyane in Cranberry, Moosbeere und Preiselbeere. Die Peaknummern beziehen sich auf Abbildung 28 (S.64).....	66
Tabelle 11: Anthocyangehalte von verschiedenen <i>V. macrocarpon</i> Sorten unterschiedlicher Herkunft	67
Tabelle 12: Anthocyangehalt von <i>V. oxycoccus</i> und <i>V. vitis-idaea</i> unterschiedlicher Herkunft	68
Tabelle 13: Masse-Ladungsverhältnisse der Molekülonen unterschiedlicher Flavonole und deren Glykoside	70
Tabelle 14: Flavonole in Cranberrys und Moosbeeren. Die Peaknumerierung bezieht sich auf Abbildung 30 (S. 71).....	72
Tabelle 15: Zugeordnete Flavonole der Preiselbeeren. Die Peaknumerierung bezieht sich auf Abbildung 32 (S. 75).....	75
Tabelle 16: Massenspektrometrische Daten der bei 310 nm detektierten Verbindungen in Cranberrys, Moosbeeren und Preiselbeeren. Die Peaknumerierung bezieht sich auf Abbildung 34 (S. 79).....	80
Tabelle 17: Massenspektrometrische Daten der in Heidelbeeren und Blaubeeren detektierten Flavanole	87

Tabelle 18: Massenspektrometrische Detektion der Anthocyane in Heidel- und Blaubeerextrakten. Die Numerierung der Peaks bezieht sich auf Abbildung 36 (S. 90).....	91
Tabelle 19: Überblick über Gesamtanthocyangehalte für Blaubeeren und Heidelbeeren in der Literatur	93
Tabelle 20: Gehalte der einzelnen Anthocyane und Gesamtanthocyangehalt von Blau- und Heidelbeeren unterschiedlichen Ursprungs	95
Tabelle 21: Quercetinverbindungen in Heidelbeeren und Blaubeeren. Die Numerierung der Peaks bezieht sich auf Abbildung 39 (S. 103).....	98
Tabelle 22: Laricitrin- und Syringetinverbindungen in Heidelbeeren und Blaubeeren. Die Numerierung der Peaks bezieht sich auf Abbildung 39 (S. 103)	99
Tabelle 23: Detektierte Myricetinverbindungen in Heidelbeeren und Blaubeeren. Die Numerierung der Peaks bezieht sich auf Abbildung 39 (S. 103).....	100
Tabelle 24: Kämpferol- und Isorhamnetinverbindungen sowie weitere Derivate in Heidelbeeren und Blaubeeren. Die Numerierung der Peaks bezieht sich auf Abbildung 39 (S. 103).....	101
Tabelle 25: Massenspektrometrische Daten der in Andenheidelbeeren detektierten Verbindungen. Die Peaknumerierung bezieht sich auf Abbildung 40 (S. 104).....	105
Tabelle 26: Massenspektrometrische Daten der detektierten Phenolcarbonsäuren in Blau- und Heidelbeeren. Die Peaknumerierung bezieht sich auf Abbildung 42 (S. 110).....	111
Tabelle 27: Zusammenfassung der Ergebnisse der untersuchten Handelsproben	117
Tabelle 28: Herkunft, Erntejahr und Wassergehalt der untersuchten <i>Vaccinium</i> -Spezies	120
Tabelle 29: Liste kultivierter und benannter Cranberrysorten sowie deren Größe (Cup Count = Größenangabe für Cranberries; Anzahl pro Tasse) (Eck, 1990)	130
Tabelle 30: Massenspektrometrische Daten der in Moosbeere und Cranberry detektierten Flavonole.....	153
Tabelle 31: Massenspektrometrische Daten der in Preiselbeeren detektierten Flavonole	154
Tabelle 32: Massenspektrometrische Daten der in Blau- und Heidelbeeren detektierten Flavonole und andere Verbindungen bei 360 nm	155

DANKSAGUNG

Die vorliegende Arbeit wurde von 2009 bis 2013 am Institut für Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaften, Fachbereich Lebensmittelchemie der Universität Bonn unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. Galensa angefertigt. Ihm gilt mein besonderer Dank dafür, das er mir ermöglicht hat, diese Arbeit zu schreiben und mich während der ganzen Zeit stets hervorragend betreut hat.

Frau Prof. Dr. König danke ich für das Interesse an meiner Arbeit und die Bereitschaft das Zweitgutachten zu übernehmen. Frau PD Dr. van Echten-Deckert und Herrn Prof. Dr. Noga danke ich für die Bereitschaft zur Teilnahme an der Promotionskommission.

Dem Haus Rabenhorst O. Lauffs GmbH Co. KG und insbesondere Herrn Dr. Ruttkat danke ich für die finanzielle Unterstützung und die Versorgung mit Probenmaterial.

Allen Mitarbeitern des Arbeitskreises möchte ich für die freundliche Aufnahme danken.

Insbesondere bei meinen lieben Kolleg(inn)en Lisa Kothe, Rainer Wollseifen, Maike Gleichenhagen und Benno Zimmermann sowie den ehemaligen Kolleginnen Sarah Theisen und Christina Ritter möchte ich mich herzlichst für den regen wissenschaftlichen und nichtwissenschaftlichen Austausch mit vielen lustigen Gesprächen, die angenehme Arbeitsatmosphäre und die stetige Hilfsbereitschaft bedanken.

Benno Zimmermann danke ich auch für die UHPLC-MS Messungen.

Ramona Propson danke ich für die tolle Zusammenarbeit während ihrer wissenschaftlichen Abschlussarbeit. Auch meinen Diplomanden gilt ein Dank.

Ein ganz spezieller Dank gilt meinem Freund André Gordon für die ausdauernde Unterstützung durch Korrekturlesen, viel Geduld, gute Ratschläge und den wissenschaftlichen Austausch.

Ein herzlicher Dank geht auch an meine lieben Eltern, die mich stets bei allem was ich mache unterstützen. Vielen Dank auch für die finanzielle Unterstützung ohne die das alles nicht möglich gewesen wäre.