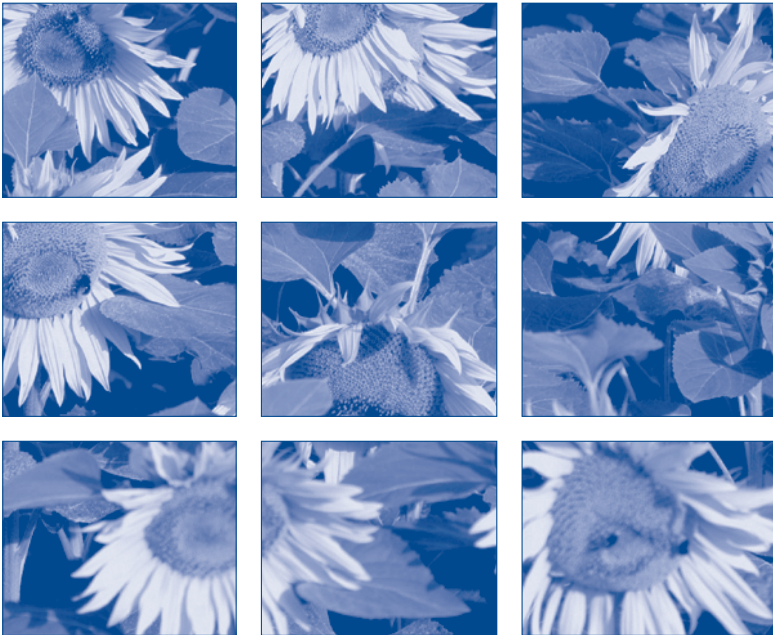


# Entwicklung einer NIRS-Kalibration zur Bestimmung des Ölsäuregehaltes an vermahlener Sonnenblumensaat als qualitätssichernde Maßnahme bei Vermarktung und Verarbeitung von High-Oleic-Sonnenblumen



*Autoren:*

*Bettina Biskupek-Korell, Patricia Rauscher und Stephan Eidner  
Fachhochschule Hannover, Fachbereich Bioverfahrenstechnik,  
Heisterbergallee 12, D-30453 Hannover*

# Gliederung

1 Einleitung

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Probenmaterial

2.1.2 NIRS-Geräte

2.1.3 Mühlen

2.2 Methoden

2.2.1 Vorversuche zur Vermahlung und Lagerung

2.2.2 Referenzanalytik

2.2.3 Auswahl der Kalibrier- und Validierproben

2.2.4 Vermahlungsprotokolle

2.2.5 Probenpräsentation/Messung

2.2.6 Kalibrationserstellung

3 Ergebnisse

3.1 Vorversuche

3.1.1 Mühlentyp/Vermahlungsdauer

3.1.2 Feuchtegehalt der Proben

3.1.3 Lagerung gemahlener Proben

3.1.4 Eigenschaften verschiedener SB-Typen

3.2 Kalibrationsentwicklung und Validierung

4 Diskussion

4.1 Einfluss der Probenvorbehandlung und Vermahlung

4.2 Entwickelte Kalibrationen

4.3 Ausblick

5 Zusammenfassung

6 Literaturverzeichnis

7 Anhang

Danksagung

# Entwicklung einer NIRS-Kalibration zur Bestimmung des Ölsäuregehaltes an vermahlener Sonnenblumensaat als qualitätssichernde Maßnahme bei Vermarktung und Verarbeitung von High-Oleic-Sonnenblumen

Bettina Biskupek-Korell, Patricia Rauscher und Stephan Eidner  
Fachhochschule Hannover, Fachbereich Bioverfahrenstechnik,  
Heisterbergallee 12, D-30453 Hannover

## 1 Einleitung

Hochölsäurereiche (HO; high oleic) Sonnenblumensorten weisen mit einem Ölsäureanteil von bis zu 92 % im Samenöl derzeit eine Spitzenposition zur Bereitsstellung von Ölsäure für die chemische Industrie auf. Allerdings gelingt es derzeit nur unter Einhaltung eines strengen Qualitätsmanagements und bei geeigneter Sortenwahl, Sonnenblumenöl mit einem Ölsäureanteil von mehr als 90 % zu produzieren.

Hinzu kommt, dass der Anbau der Sonnenblume in Deutschland noch mit etlichen Problemen behaftet ist. Neben Pilzinfektionen (*Botrytis cinerea* und *Sclerotinia sclerotiorum*) bereitet auch das späte Abreifeverhalten der momentan verfügbaren High-Oleic-Sorten im Hinblick auf Ertragsbildung und Qualität des Ernteguts erhebliche Schwierigkeiten.

Neben der Stabilisierung der Ertragssicherheit der HO-Sonnenblume in Deutschland ist vor allem eine gesicherte Erfassung der verschiedenen HO-Qualitäten des Ernteguts erforderlich. Hierfür bietet sich die Bestimmung des Ölsäuregehaltes mit Hilfe der Nahinfrarotspektroskopie (NIRS) an, denn nur die sichere Erfassung der verschiedenen Sonnenblumenölqualitäten ermöglicht die optimale Verwertung und Wertschöpfung dieses Rohstoffs im *food* sowie *non-food* Bereich.

Auf dem Gebiet der Infrarotspektroskopie gibt es insgesamt bereits vielfältige Erfahrungen und praxistaugliche Methoden und Netzwerke für eine Reihe von Anwendungen (z.B. Netzwerke des VDLUFA u.a. für den Bereich der pflanzlichen Rohstoffe; verschiedene Netzwerke im Bereich der Milch- und Lebensmittelanalytik).

Der Vorteil der Nahinfrarotspektroskopie besteht in der schnellen und eventuell auch zerstörungsfreien Untersuchung vieler Inhaltsstoffe und Eigenschaften der unterschiedlichsten Matrices (z. B. Lebens- und Futtermittel, Böden etc.). Außer dem NIRS-Gerät und evtl. einer Probenmühle werden keine weiteren Hilfsmittel wie Chemikalien o.ä. benötigt.

Derzeit existiert jedoch noch keine allgemein einsetzbare NIRS-Methode zur schnellen Bestimmung des Ölsäuregehaltes bei High-Oleic-Sonnenblumen.

Dies würde jedoch eine deutliche Verbesserung im Hinblick auf die Qualitätssicherung bei der Verwertung von HO-Sonnenblumen bedeuten, da es derzeit in der Praxis immer wieder große Probleme bezüglich Vermischungen und fehlerhafter Deklarationen gibt, was mit Preisabschlägen für die Erzeuger auf der einen Seite und Schwierigkeiten für die Verarbeiter auf der anderen Seite verbunden ist.

Die Bestimmung des Fettsäurespektrums mit Hilfe der Gaschromatographie scheidet aufgrund des Zeitbedarfes, des Aufwandes und der damit verbundenen Kosten als Schnellmethode für den Praxiseinsatz aus, dient jedoch als Referenzmethode zur Kalibrierung von NIRS-Geräten.

Somit bietet sich als Schnellmethode zur Untersuchung des Ölsäuregehaltes in Sonnenblumensaat der Einsatz der Nahinfrarotspektroskopie an. Während im Bereich der Untersuchung von Getreide und Raps mit NIRS mittlerweile die Messung am Ganzkorn Standard ist, führt dies bei Sonnenblumen zu Schwierigkeiten, was mit der Morphologie der Achänen allgemein und insbesondere der Dicke der Fruchtschale zu begründen ist.

Das Ziel der vorliegenden Untersuchung, die im Zeitraum von Mai bis August 2002 an der FH Hannover durchgeführt wurde, war es deshalb, eine NIRS-Methode an gemahlener Sonnenblumensaat zu entwickeln, die den Personenkreisen, die sich mit Züchtung, Anbau, Vermarktung und Verarbeitung von HO-Sonnenblumen befassen, zur Verfügung stehen soll, um die Qualität der Saat möglichst einfach und schnell zu erfassen. Interessenten und potenzielle Nutzer sind deshalb Pflanzenzüchter und Versuchsansteller ebenso wie Landhandel, Anbauverbände und Ölsaatenverarbeiter.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Material

#### 2.1.1 Probenmaterial

Um eine möglichst breite Probenbasis für die Entwicklung der NIRS-Kalibrationen zur Verfügung zu haben, wurden vor Beginn des Projektes eine Reihe von Züchtern und Versuchsanstaltern um die Bereitstellung von Probenmaterial aus dem Anbau von High-Oleic-Sonnenblumen gebeten. Als Ergebnis standen für die vorliegende Untersuchung insgesamt 161 unterschiedliche Saatgutproben zur Verfügung, die teilweise von Praxisschlägen und teilweise aus Versuchspartzenen stammten.

Es handelte sich hierbei um Material 16 verschiedenener High-Oleic-Sonnenblumensorten von insgesamt 31 Standorten aus drei Erntejahren. Die Spannweite der Ölsäuregehalte betrug 64,2-92,4%. Eine genaue Auflistung der verwendeten Proben mit ihren Ölsäuregehalten sowie der bereitstellenden Firmen und Institutionen sind dem Anhang (Tab. A1-A5) zu entnehmen.

Die Proben wurden nach ihrem Eintreffen zunächst gereinigt, um Verunreinigungen und Bruchkörner zu entfernen, anschliessend wurden sie bei 60°C im Umlufttrockenschrank schonend getrocknet und dann bis zur weiteren Verwendung trocken, kühl und dunkel aufbewahrt.

#### 2.1.2 NIRS-Geräte

Bei den eingesetzten Geräten handelte es sich um zwei in Reflektion messende und ein in Transmission messendes Spektrometer unterschiedlicher Hersteller.

Zum einen wurden die Proben auf einem INFRAALYZER 500 der Firma *Bran+Luebbe* eingescannt. Das Gerät misst im Wellenlängenbereich von 1100-2498 nm in 2 nm-Inkrementen. Zur Datenaufnahme stand das Programm SESAME (Version 3) der Firma *Bran+Lübbe* zur Verfügung.

Weiterhin konnten alle Proben auch auf einem Spektrometer des Typs NIRSYSTEMS 6500 der Firma FOSS, welches freundlicherweise vom Institut für Pflanzenbau und Grünlandwirtschaft der FAL in Braunschweig zur Verfügung gestellt wurde, gemessen werden. Dieses Gerät nimmt im Wellenlängenbereich zwischen 400 und 2500 nm alle 2 nm eine Messung vor. Hier erfolgte die Datenaufnahme mit der Programm ISI (Infrasoft International, Version II)

Mit dieser Software wurden im weiteren Verlauf alle Datenauswertungen und Berechnungen durchgeführt. Hierzu wurden die Spektren des InfraAlyzers aus dem Programm SESAME ex- und in ISI importiert.

Als drittes Gerät stand ein Spektrometer des Typs INFRATEC 1241 Grain Analyzer der Firma FOSS zur Verfügung. Dieses Gerät wird derzeit häufig in der Praxis zur Analytik von Getreide und Raps am Ganzkorn genutzt und sollte deshalb vergleichend hinzugezogen werden. Das INFRATEC arbeitet in Transmission und misst im Wellenlängenbereich von 850-1050 nm. Die Probenpräsentation erfolgte hier mit einer 2mm-Küvette und unter Zuhilfenahme des FOSS-flour-modules zur Küvettenbefüllung. Auch diese Daten wurden mit Hilfe des Programms ISI verrechnet.

### 2.1.3 Mühlen

Zur Zerkleinerung der Sonnenblumenproben wurden drei verschiedene Mühlen aus unterschiedlichen Preisklassen vergleichend eingesetzt. Bei allen drei Mühlen handelte es sich um Schneidmühlen:

Als einfachstes Gerät kam eine Haushalts-Kaffeemühle, Modell *M 85.00*, der Firma *Petra electric* zum Einsatz. Für diese Mühle liegen keine Angaben über die Messerdrehzahl vor; die Leistung beträgt 100 W.

Bei der zweiten Mühle handelte es sich um die Labor-Messermühle *Grindomix GM 200* der Firma *RETSCH*. Diese Mühle mit einer Leistung von 750 W verfügt über eine digitale Zeit- und Drehzahlvorwahl (2.000 bis 10.000 U/min).

Weiterhin wurden Mahlversuche mit der Labor-Messermühle *Knifetec 1095 Sample Mill* der Firma *FOSS-Tecator* durchgeführt. Neben einer Kühleinrichtung mit Hilfe eines am Wasserhahn anzuschliessenden Schlauches verfügt diese Mühle über eine Drehzahl von 20.000 U/min, drei Zeitvorwahlen (2, 5 und 10 Sekunden); die Leistung beträgt 440 W.

## 2.2 Methoden

### 2.2.1 Vorversuche zur Vermahlung/Lagerung

Bevor mit den eigentlichen Arbeiten zur Kalibrationsentwicklung begonnen werden konnte, sollte eine reproduzierbare und praktikable Methode zur Vorbehandlung und Vermahlung der Proben erarbeitet werden. Ausserdem sollte der Einfluss weiterer Faktoren wie der Feuchtegehalt der Proben, die Befüllungsdichte der Küvetten und eine Lagerung der gemahlten Proben bis zum Einscannen untersucht werden.

Diese Vorversuche dienten dazu, zunächst anhand ausgewählter Proben den Einfluß verschiedener Faktoren der Probenvorbehandlung und des Messvorgangs auf Abweichungen zwischen den NIRS-Spektren dieser Proben zu untersuchen, um eine größtmögliche Reproduzierbarkeit bei möglichst geringem Aufwand zu gewährleisten. Dabei wurden die folgenden Einflußgrößen am selben Ausgangsmaterial untersucht; die Beurteilung erfolgte zum einen anhand einer visuellen Bonitur des Mahlgutes und zum anderen durch die Berechnung der Standardabweichungen zwischen den aufgenommenen Spektren wiederholter Messungen (jeweils drei bis sechs) mit dem INFRAALYZER 500.

- *Einflußfaktoren bei der Vermahlung:* Mühlentyp, Vermahlungsdauer, Vermahlungstemperatur
- *Mahleigenschaften der Probe:* Unterschiedliche Feuchtegehalte der Proben sowie unterschiedliche Sonnenblumentypen mit variierenden Eigenschaften der Achänen wie Größe, Schalenanteil etc.
- *Messbedingte Störgrößen:* Reproduzierbarkeit wiederholter Messungen, Küvettenfehler, Reinigung der Küvetten, Befüllungsdichte der Küvette, Erwärmung während der Messung
- *Lagerung der gemahlten Proben:* Lagergefäße, Lagerort (Temperatur, Licht), Lagerdauer

### 2.2.2 Referenzanalytik

Die Bestimmung der Fettsäure-Zusammensetzung der Proben erfolgte im Auftrag durch das Labor des Lehrstuhls für Pflanzenzüchtung der JLU in Giessen. Die Analysen wurden nach einer an diesem Institut etablierten Routinemethode mittels Gaschromatographie durchgeführt (MARQUARD 1987). Die Bestimmung erfolgte anhand des gemahlten Probenmaterials, welches auch zur Aufnahme der Spektren verwendet wurde.

Die Parameter des chromatographischen Systems sind wie folgt aufgelistet (BAETZEL 2002):

- Probenvorbereitung: Herstellung der Fettsäure-Methylester (FAME) aus dem extrahierten Fett durch Umesterung mit Methanol/Natriummethylat
- FAME-Standard: Rotichrom FO 4 (Roth, Karlsruhe)
- GC-System (ThermoFinnigan): Kapillar-Gaschromatograph -Trace, Automatischer Probengeber AS-200S, Flammenionisations-Detektor
- PC-Auswertesystem: Chrome Card 32-bit (Vers. 2.01, ThermoFinnigan)

- Kapillar-Trennsäule: 30 m x 0,53 mm ID, BPX70 (SGE Analytical Products)
- Betriebstemperatur: Injektor 250 °C, Detektor 280 °C,
- Temperaturprogramm: 200 °C (1 min), 5 °C/min auf 220 °C (1 min),
- Trägergas: Helium, 3 ml/min (Konstanter Fluß)
- Splitverhältnis: 1:50

### 2.2.3 Vermahlungsprotokolle

Aus den Ergebnissen der Vorversuche wurden für die beiden letztendlich zum Einsatz gekommenen Mühlen die folgenden Vermahlungsprotokolle erarbeitet, die bei den nachfolgend durchgeführten Arbeiten zur Kalibrationsentwicklung bei allen Proben gleichermaßen angewendet wurden:

- *M 85.00 (Petra electric)*: 20g der gereinigten und auf max. 9% Feuchte getrockneten Probe werden 3 x 5 Sekunden vermahlen; zwischen den drei Mahlgängen wird das Material mit einem Spatel gelockert.
- *Grindomix GM 200 (RETSCH)*: 40g der gereinigten und auf max. 9% Feuchte getrockneten Probe werden 1 x 2 plus 1 x 10 Sekunden vermahlen; zwischen den beiden Mahlgängen wird das Material mit einem Spatel gelockert.

Von allen Proben wurde vor der Vermahlung ein Aliquot entnommen und damit eine Bestimmung der Trockenmasse nach den Vorgaben des VDLUFA-Methodenbuches (VDLUFA 1976) vorgenommen.

Zusätzlich zu den vermahlenden Proben wurden ungemahlene Achänen des Probensets 1 mit dem INFRAALYZER 500 zum späteren Vergleich mit den gemahlenden Proben gescannt.

### 2.2.4 Auswahl der Kalibrier- und Validierproben

Aus den zur Verfügung stehenden Proben wurden zwei unterschiedliche Probensets mit jeweils 70 Proben zusammengestellt. Davon dienten jeweils 50 zur Kalibrierung und 20 zur anschließenden Validierung. Eine Aufteilung der insgesamt zur Verfügung stehenden Proben erwies sich als notwendig, da von einigen Proben zuwenig Material zur Verfügung stand, um auf beiden Mühlen vermahlen zu werden; eine Reihe der Proben war jedoch in beiden Sets enthalten.



Bei der Verteilung der Proben auf die beiden Sets fanden die Sorte, die Herkunft sowie der Ölsäuregehalt Berücksichtigung, um zu gewährleisten, dass sich beide Sets in diesen wesentlichen Parametern so ähnlich wie möglich waren.

Die Auswahl der unabhängigen Validierproben für jedes Set erfolgte nach dem folgenden Prinzip:

Die Proben wurden zunächst aufsteigend nach ihrem Gehalt an Ölsäure sortiert und im Anschluss daran in gleichmässigen Abständen die 20 Validierungsproben festgelegt. Waren mehrere Proben mit sehr ähnlichen Ölsäuregehalten vorhanden, wurden weitere Kriterien wie Sorte oder Herkunft herangezogen, um eine möglichst repräsentative Auswahl zu treffen.

Tab. 1 zeigt einen Überblick über die Zusammensetzung der Probensets.

**Tab. 1: Charakterisierung der beiden Probensets**

	Set 1 (Grindomix GM 200)		Set 2 (M 85.00)		
	Kalibrationsproben	Validierungsproben	Kalibrationsproben	Validierungsproben	
<b>Anzahl</b>	50	20	50	20	
<b>Ölsäure %</b>	Mittelwert	83,3	84,0	82,3	84,0
	Standardabw.	7,6	6,9	8,1	7,0
	Min.	67,8	66,5	66,2	64,2
	Max.	92,4	92,2	92,4	92,4
<b>Feuchte %</b>	Mittelwert	5,4	5,8	5,5	5,8
	Standardabw.	0,7	0,3	0,9	0,5
	Min.	3,0	5,2	3,0	4,2
	Max.	6,4	6,5	6,6	6,8

Die genauen Daten der einzelnen Proben beider Probensets ist den Tabellen A2-A5 im Anhang zu entnehmen

### 2.2.5 Probenpräsentation/Messung

Alle drei verwendeten Geräte unterschieden sich in der Art der Küvetten, deren Befüllung und dem eigentlichen Messvorgang:

*NIRSystems 6500*: Die gemahlene und gründlich gemischte Probe wurde in eine gereinigte und zu dem Gerät passende Küvette („Ringcup“) locker eingefüllt und das

überschüssige Material mit einem Metallring abgestreift. Das Verschliessen der Küvette erfolgte durch Eindrücken des Kunststoffdeckels. Äußerlich anhaftende Probenreste wurden mit Druckluft entfernt und die Cups in den Einzugsschacht des Probenzuführers gelegt. Nach der Messung wurde der Deckel der Küvette durch Anlegen eines Vakuums geöffnet, die Küvette mit Druckluft gereinigt und der Ölfilm mit einem in Alkohol getränkten Papiertuch entfernt. Mit jeder Probe wurden drei Küvetten befüllt und separat gemessen.

*InfraAlyzer 500:* Verwendet wurden für dieses Gerät passende Küvetten. Die Befüllung des Küvettenbodens erfolgte in lockerer Schüttung und überhäuft. Mit einem Metallring wurde überragendes Material abgestreift, sodass keine zusätzliche Verdichtung des Materialies erfolgt. Durch Aufdrehen des Küvettendeckels erhielt man eine gleichmäßige Verdichtung der Messprobe. Nach der Messung wurde die Küvette mit einem Pinsel entleert und mit einem weichen Kosmetiktuch, welches mit 70%-igem Ethanol benetzt war, gereinigt und luftgetrocknet, dabei kühlte sich die Küvette nach der Messung ab. Auch hier wurde jede Probe dreimal gemessen, wobei ebenfalls jeweils drei Küvetten befüllt und separat gemessen wurden. Sofern beim Betrachten eine deutliche Abweichung eines der Spektren auffiel, wurde eine vierte Messung vorgenommen und das abweichende Spektrum eliminiert.

An diesem Gerät erfolgte zusätzlich die Messung der NIRS-Spektren an intakten Achänen der Proben des Probensets 1. Hierbei wurden die Achänen in lockerer Schüttung in die Küvetten gefüllt und diese verschlossen. Auch hier erfolgten drei Neubefüllungen und drei Messungen pro Probe.

*Infratec 1241 Grain Analyzer:* Zum Einsatz kamen 2/1,5 mm-Küvetten, die mit Hilfe des passenden „flour-modules“ befüllt wurden: Hierbei wurden die Oberteile der Küvetten in die Vertiefungen einer Metallplatte eingelegt, die gemahlene Probe darauf gegeben und die Oberfläche mit einem Metallring glattgestrichen, sodass die Probe in lockerer Lagerung gleichmässig in der Küvette verteilt wurde. Anschliessend wurde der Deckel der Küvette aufgedreht und die Proben in den Autosampler gelegt. Es erfolgte die Aufnahme von drei Scans je Messung, deren Mittelwerte gespeichert wurden; jede Probe wurde zweimal gemessen, wobei zwischen den Messungen neu befüllt wurde. Auch hier erfolgte die Entleerung und Reinigung der Küvette wie beim *InfraAlyzer* angegeben.

### 2.2.6 Kalibrationserstellung

Mit den an den drei Spektrometern aufgenommenen Spektren wurden zunächst eine Vielzahl unterschiedlicher Kalibrationen berechnet, um herauszufinden, mit welchem Kalibrationsverfahren und welchen Datentransformationen die besten Ergebnisse zu erzielen sind.

In allen Fällen wurde eine Kreuzvalidierung durchgeführt, um die Anzahl der notwendigen Faktoren für die Kalibrierung zu bestimmen und so eine Überanpassung zu vermeiden.

Weiterhin wurde jede Kalibrationsgleichung mit den vorher festgelegten, unabhängigen Validierproben validiert.

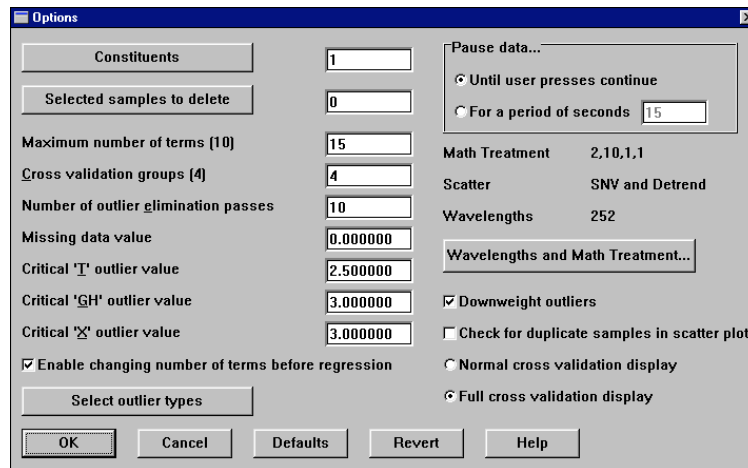
Die berechneten Kalibrationsvarianten für die gemahlten Proben und für die beiden in Reflektion messenden Geräte NIRSystems und InfraAlyzer sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

**Tab. 2: Übersicht über alle berechneten Kalibrationen der gemahlten Proben für NIRSystems und InfraAlyzer**

<b>Einflussfaktoren</b>	<b>Varianten</b>		
Gerät	NIRSystems 6500 InfraAlyzer 500		
Probenset	1 (Grindomix GM 200) 2 (M 85.00) 1 und 2		
Methode	PLS MPLS		
Wellenlängen	1100-2500 nm 850-1100 nm (nur NIRSystems)		
Datenvorbehandlung und „Math treatment“	Ohne	0	10 1 1
	1. Ableitung	1	10 1 1
	1. Ableitung und MSC <sup>1</sup>	1	10 1 1
	2. Ableitung	2	10 1 1
	2. Ableitung und SNV/detrend <sup>1</sup>	2	10 1 1

<sup>1</sup> Streulichtkorrekturen: *multiplikative scatter correction* (MSC), *standard normal variate and detrend* (SNV/detrend), vgl. TILLMANN 1996

Die Einstellungen bei den Berechnungen mit der ISI-Software können der folgenden Abbildung 1 entnommen werden:



**Abb. 1: Einstellungen der ISI-Software bei Kalibrierung (hier: 2. Abl., SNV and detrend)**

Um zu untersuchen, ob die Einbindung einer „Feuchtedatei“ („R-Datei“, vgl. TILLMANN 1996) die Kalibrationsergebnisse verbessert, wurden an beiden Geräten Kalibrationen (Methoden u. Datenvorbehandlungen wie oben) mit dem Probenet 1 und den Wellenlängen von 1100-2500nm gerechnet; als R-Datei dienten die Spektren von zwei Proben, die mit drei unterschiedlichen Feuchtegehalten gescannt und diese Spektren dem Probenet 1 hinzugefügt wurden. Die Feuchtegehalte der Proben sind der Tabelle 3 zu entnehmen.

**Tab. 3: Feuchtegehalte der Proben für die „Feuchtedatei“**

Probe	angestrebte Feuchte	Feuchte %
38g (InfraAlyzer)	Getrocknet	2,5
38l (InfraAlyzer)	Lagerfeuchte	3,4
38f (InfraAlyzer)	Feucht	8,0
41g (InfraAlyzer)	Getrocknet	2,2
41l (InfraAlyzer)	Lagerfeuchte	3,2
41f (InfraAlyzer)	Feucht	7,7
38g (NIRSystems)	Getrocknet	3,5
38l (NIRSystems)	Lagerfeuchte	4,2
38f (NIRSystems)	Feucht	8,1
41g (NIRSystems)	Getrocknet	3,7
41l (NIRSystems)	Lagerfeuchte	4,1
41f (NIRSystems)	Feucht	7,1

Zum Vergleich wurden Kalibrationen mit den InfraAlyzer-Spektren der intakten Achänen der in Set 1 enthaltenen Proben berechnet; die Kalibrationsvarianten entsprachen auch hier den oben genannten Methoden und Datenvorbehandlungen.

Um die grundsätzliche Eignung des Infratec-Gerätes zur Bestimmung des Ölsäuregehaltes zu untersuchen, wurden die Proben des Set 1 mit diesem Gerät eingescannt. Auf Empfehlung der Herstellerfirma (VON BOISMAN 2002) wurden hier nur zwei Kalibrationsvarianten gerechnet („math treatment“ 0 0 1 1):

- ohne Datenvorbehandlung, ohne Streulichtkorrektur
- ohne Datenvorbehandlung, Inverse MSC

## 3. Ergebnisse

### 3.1 Vorversuche

#### 3.1.1 Mühlentyp/Vermahlungsdauer

Das Ziel der durchgeführten Untersuchungen zur Probenvermahlung war die Überprüfung von eventuellen Unterschieden bei der Verwendung verschiedener Mühlen und unterschiedlichen langen Vermahlungsdauern. Dies sollte die Erarbeitung von reproduzierbaren Mahlregimen ermöglichen, um zunächst für die Kalibrationsentwicklung, aber auch für eine spätere Methodenvorschrift, genaue Angaben zur Vorgehensweise bereitstellen zu können.

Zu Beginn wurden eine Vielzahl von Vermahlungsversuchen mit Früchten von Ölsonnenblumen durchgeführt, um erste Erfahrungen beim Umgang mit dieser Matrix zu gewinnen. Die Beurteilung der Ergebnisse erfolgten unter anderem durch eine visuelle Bonitur des Mahlgutes, wie beispielhaft in der Abb. 2 dargestellt. Die Mühle Grindomix GM 200 stand zu diesem Zeitpunkt noch nicht zur Verfügung, so dass die beiden anderen Mühlen (vgl. 2.1.3) eingesetzt wurden.

Aus den Fotografien ist ersichtlich, dass erst ab einer Vermahlungsdauer von 10 Sekunden ein feinkörniges, schütffähiges und homogenes Mahlgut zu erzielen war, bei dem auch die Bestandteile der Fruchtschale faserig zermahlen waren. Eine weitere Verbesserung konnte bei beiden Mühlen durch eine Intervallvermahlung mit zwischenzeitlichem Mischen der Probe erreicht werden. Negativ wirkte sich jedoch eine zu lange Vermahlung aus; hier kam es durch die Zerstörung der Ölkörper sowie einer Erwärmung der Probe zu Verklumpungen; die entstandenen Agglomerate konnten

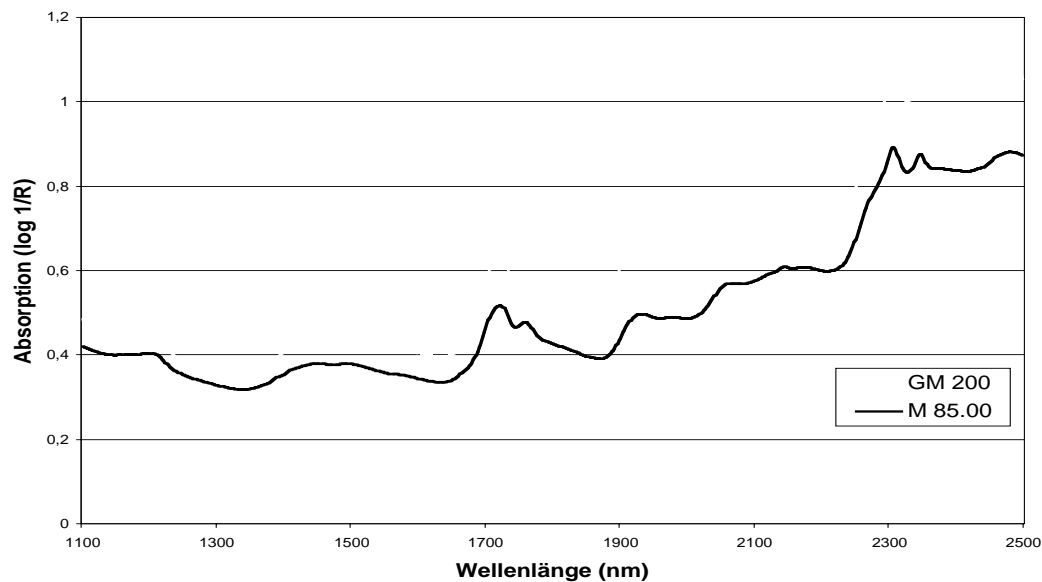
auch durch nachfolgendes Mischen nicht beseitigt werden. Das Material war in diesem Zustand nicht mehr schüttfähig.



**Abb. 2: Mahlverhalten in Abhängigkeit von der Mühle und der Mahldauer, Probenmaterial „Öltypen“**

Ausgehend von diesen Erkenntnissen wurden die unter 2.1.3 aufgeführten Vermahlungsprotokolle erstellt und allen weiteren Versuchen zugrundegelegt.

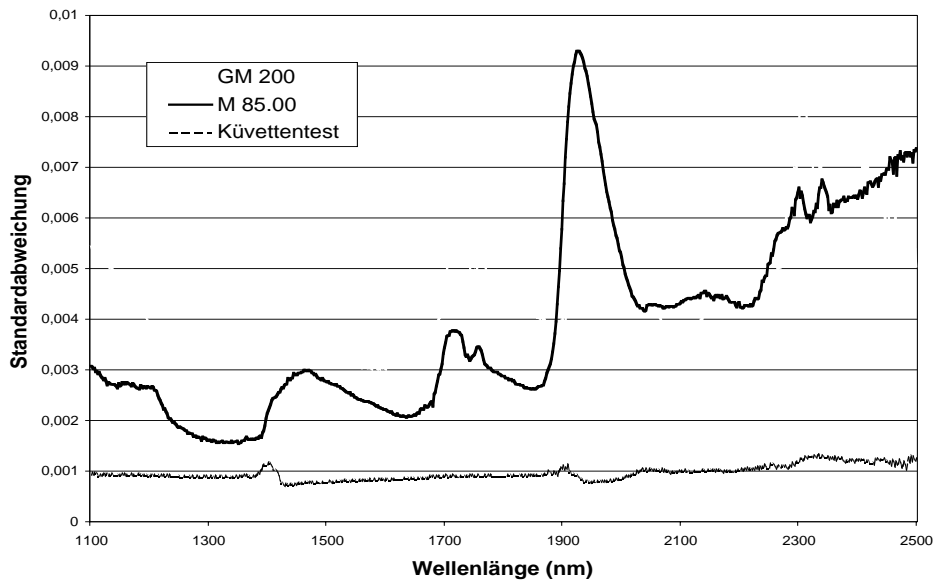
Im nächsten Schritt erfolgte eine Bewertung dieser Protokolle anhand spektraler Daten. Hierfür wurde eine Reihe von Proben (Ölsonnenblumen) vermahlen und mit dem InfraAlyzer 500 eingescannt. Zwei beispielhafte Spektren sind in der Abb. 3 dargestellt. Es zeigte sich, dass die Absorptionswerte der Proben, die mit der GM 200 vermahlen wurden, etwas über denen der mit M 85.00 vermahlenen Proben lagen.



**Abb. 3: Absorptionswerte (Mittelwerte aus jeweils fünf Spektren derselben Probe) in Abhängigkeit von Wellenlänge und Mühle**

Ein weiteres Ziel der Vorversuche bestand darin, anhand der Berechnung von Standardabweichungen zwischen wiederholtem Einscannen derselben Probe, jeweils nach Neubefüllung der Küvette, die Reproduzierbarkeit der gewählten Methode zu ermitteln.

In der Abb. 4 und der Tab. 4 sind einige dieser Ergebnisse beispielhaft dargestellt. Es zeigte sich, dass die Höhe der Standardabweichungen zwar an den verschiedenen Wellenlängen unterschiedlich hoch waren, aber insgesamt in der überwiegenden Anzahl aller Messungen einen Wert von 0,01 nicht überschritten und somit in der Größenordnung eines statistischen Rauschens lagen. Vergleichend erfolgte hierbei auch die Prüfung der verwendeten Küvetten im ungefüllten Zustand; auch hier konnten keine Unterschiede bezüglich der Absorptionswerte festgestellt werden.



**Abb. 4: Standardabweichungen der Absorptionswerte (berechnet aus jeweils fünf Spektren derselben Probe) in Abhängigkeit von Wellenlänge und Mühle; zum Vergleich Standardabweichungen der Spektren von vier verschiedenen, leeren Küvetten**

**Tab. 4: Standardabweichungen der Absorptionswerte (berechnet aus jeweils fünf Spektren derselben Probe); zum Vergleich Standardabweichungen der Spektren von vier verschiedenen, leeren Küvetten**

	Mittelwert	Min.	Max.
<b>M 85.00</b>	0,004	0,001	0,009
<b>GM 200</b>	0,004	0,003	0,009
<b>Küvetten</b>	0,0009	0,0007	0,001

Die Standardabweichungen in den weiteren Vorversuchen lagen immer in ähnlichen Größenordnungen wie die in Abb. 4 und Tab. 4 gezeigten und werden deshalb im Folgenden nicht dargestellt.



### 3.1.2 Feuchtegehalt der Proben

Die Vorversuche zum Vergleich der verschiedenen Mühlen wurden jeweils mit lagentrockenen Proben (ca. 5-6 % Feuchte) durchgeführt. Deshalb galt es zu prüfen, wie sich unterschiedliche Feuchtegehalte des Probenmaterials auf die Vermahlungseignung und den Spektrenverlauf auswirken. Hierfür wurden einige Proben mit definierten Feuchtegehalten (ca. 5, 9, 13, 15 % Feuchte) erzeugt und mit diesem Material Mahlversuche durchgeführt und Spektren aufgenommen und ausgewertet.

Ein augenscheinliches Ergebnis dieser Versuche war, dass die Vermahlungseignung bei ansteigender Feuchte der Proben stark abnahm. Aus der Abb. 5 ist ersichtlich, dass das Mahlgut mit zunehmender Feuchtigkeit immer gröber wurde, bis bei Feuchtegehalten über 15% eine Vermahlung kaum mehr möglich war.

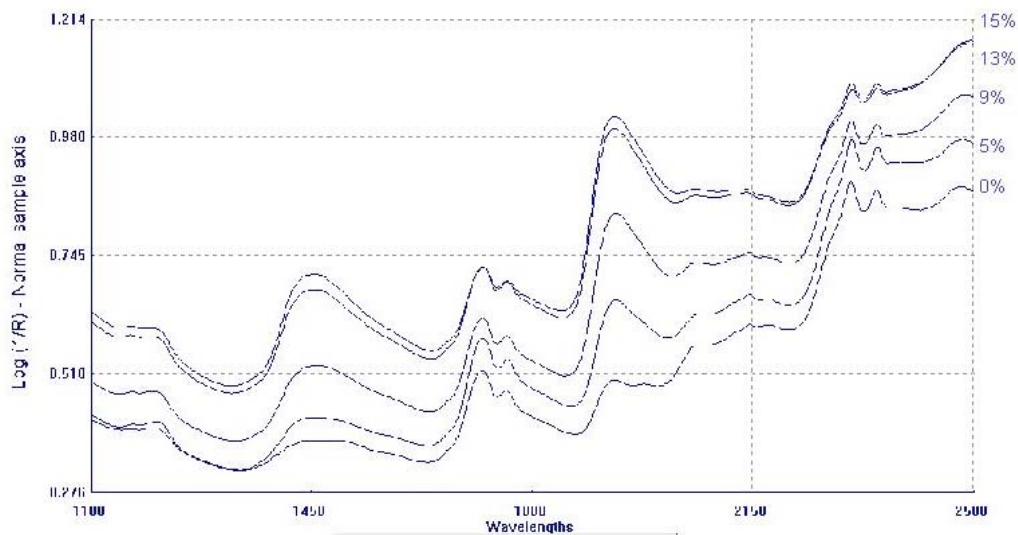


8

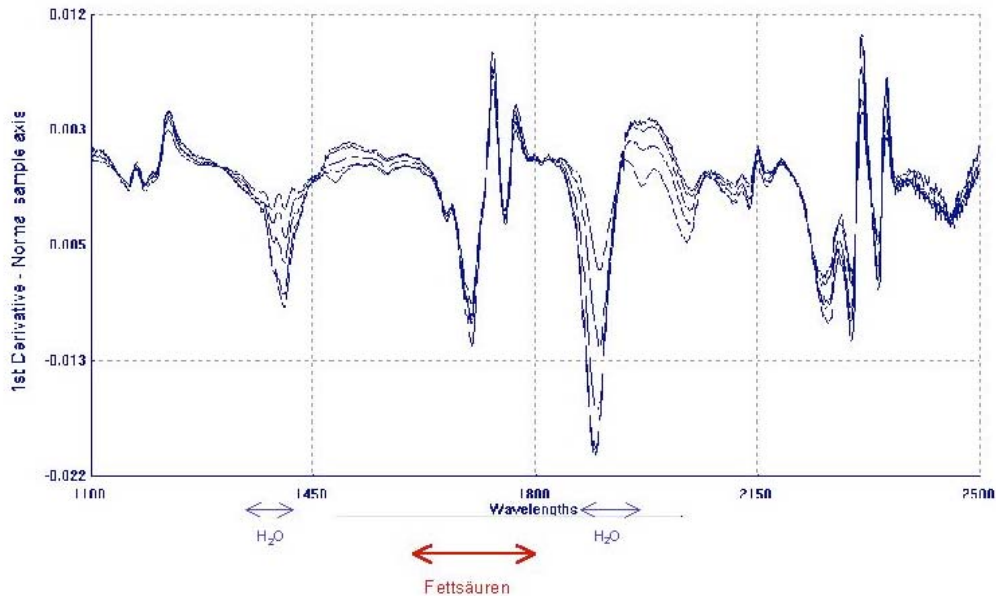
**Abb. 5: Mahlverhalten in Abhängigkeit vom Feuchtegehalt, Probe „Öltyp“, Mühle M 85.00**

Ein Vergleich der Spektren zeigt, dass die Absorptionswerte unterschiedlich hoch waren, wobei die Werte für die beiden feuchten Proben (13 bzw. 15% Feuchte) sehr nah beieinander lagen (vgl. Abb. 6). Um zu überprüfen, ob es sich um grundsätzliche Unterschiede im Spektrenverlauf oder nur um eine Parallelverschiebung handelte, wurde die erste Ableitung der Werte gebildet; diese Ergebnisse sind in Abb. 7 dargestellt. Der Verlauf der so transformierten Spektren zeigt, dass es sich nicht um reine Verschiebungen in der Basislinie handelt, sondern deutliche Unterschiede im Bereich

der Absorptionsbanden des Wassers festzustellen sind (1390-1426 nm; 1846-1986 nm); im Bereich der für die Absorption der Fettsäuren relevanten Wellenlängen (ca. 1600-1800 nm) sind jedoch wesentlich geringere Unterschiede vorhanden.

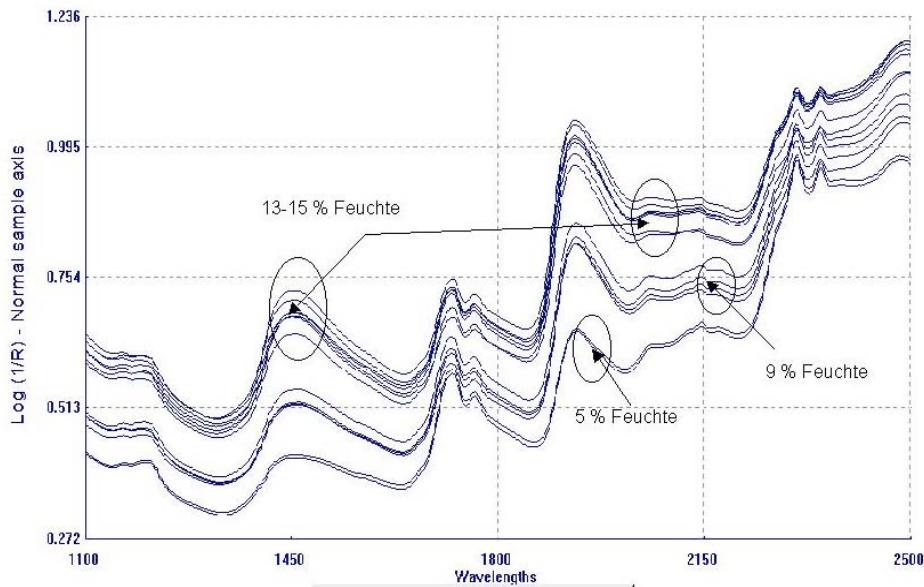


**Abb. 6: Absorptionswerte (Mittelwerte aus fünf Spektren) in Abhängigkeit vom Feuchtegehalt, Probe „Öltyp“, Mühle M 85.00**



**Abb. 7: 1. Ableitung der Absorptionswerte (Mittelwerte aus fünf Spektren) in Abhängigkeit vom Feuchtegehalt, Probe „Öltyp“, Mühle M 85.00**

Vergleicht man den Spektrenverlauf nicht anhand der Mittelwertspektren, sondern bezieht alle einzelnen Spektren ein, so wird deutlich, dass die Streuung der Absorptionswerte bei höherer Feuchtigkeit deutlich zunimmt (vgl. Abb. 8). Dies bedeutet, dass mit zunehmender Probenfeuchte eine geringere Reproduzierbarkeit der Ergebnisse einhergeht. Auch hier sind die Unterschiede im Bereich der Wasserbanden am grössten.



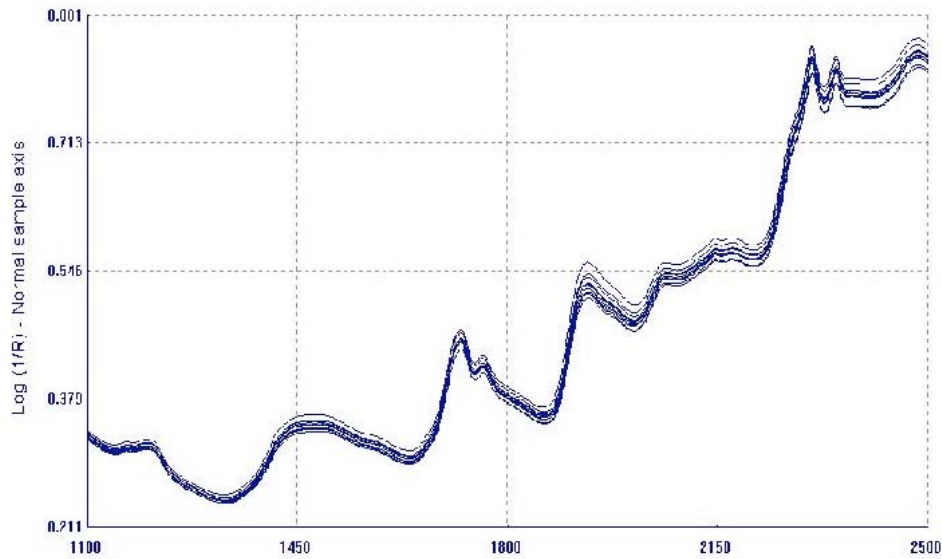
**Abb. 8: Absorptionswerte in Abhängigkeit vom Feuchtegehalt, Probe „Öltyp“, Mühle M 85.00**

### 3.1.3 Lagerung gemahlener Proben

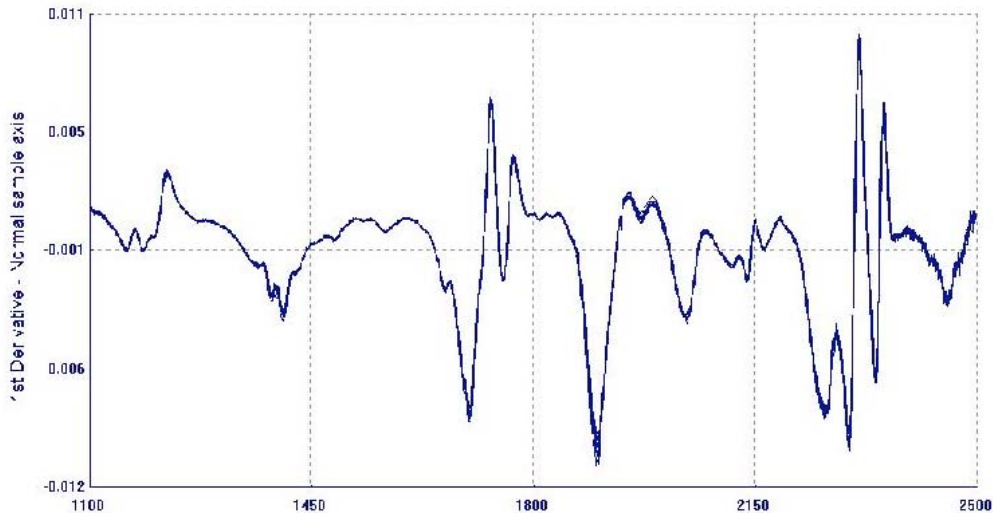
Beim späteren Einsatz der hier zu entwickelnden NIRS-Methode in der Praxis ist nicht auszuschliessen, dass die Proben zwischen dem Vermahlen und der Aufnahme der Spektren am NIRS-Gerät eine gewisse Zeit zu lagern sind. Deshalb wurde im Rahmen der Vorversuche ermittelt, inwieweit eine Lagerung des gemahlene Probenmaterials zu einer Veränderung der jeweiligen NIRS-Spektren führt, um daraus entsprechende Empfehlungen im Rahmen der Methodenvorschrift abzuleiten. Geprüft wurden dabei die folgenden Varianten:

- Lagermaterial: Schraubgläser/PE-Becher mit Deckel
- Beleuchtung: Licht/Dunkel
- Temperatur: 4°C/20°C
- Lagerdauer: 0-5 Tage

Aus den beiden Abbildungen 9 und 10 ist ersichtlich, dass die Einflüsse des Lagermaterials, der Lagerbedingungen (Licht, Temperatur) und der Lagerdauer sich anscheinend nicht gravierend auf den Verlauf der Spektren auswirken; die geringen Unterschiede im Verlauf der Originalspektren relativieren sich bei der Betrachtung der ersten Ableitung .



**Abb. 9: Absorptionswerte (Mittelwerte aus jeweils drei Spektren derselben Probe) in Abhängigkeit von der Lagerung der gemahlten Proben (Schraubgläser/PE-Becher mit Deckel; Licht/Dunkel; 4°C/20°C; 0-5 Tage) und der Wellenlänge, Probe „Verzehrtyp“, Mühle M 85.00**



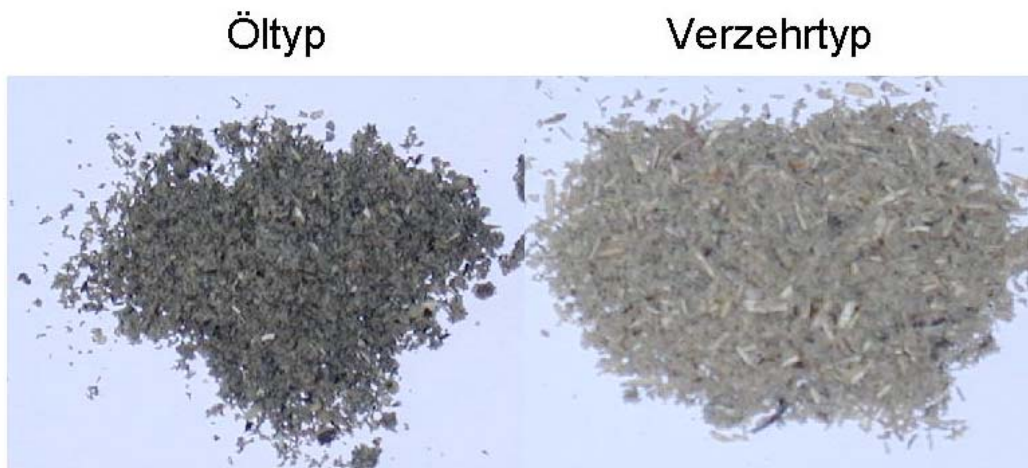
**Abb. 10: 1. Ableitung der Absorptionswerte (Mittelwerte aus jeweils drei Spektren derselben Probe) in Abhängigkeit von der Lagerung der gemahlten Proben (Schraubgläser/PE-Becher mit Deckel; Licht/Dunkel; 4°C/20°C; 0-5 Tage) ) und der Wellenlänge, Probe „Verzehrtyp“, Mühle M 85.00**

### 3.1.4 Eigenschaften verschiedener Sonnenblumen-Typen

Als vierter möglicher Parameter, der die Reproduzierbarkeit der Messungen beeinflussen könnte, wurde der Einfluss unterschiedlicher Sonnenblumentypen mit variierenden Eigenschaften der Achänen wie Größe, Schalenanteil etc. untersucht. Hierzu wurden zwei Extreme bezüglich dieser Merkmalsausprägungen verwendet; zum einen eine typische Ölsonnenblume mit relativ kleinen Achänen, weicher Fruchtschale und hohem Ölgehalt (= Öltyp), zum anderen eine typische Verzehr- oder Futtersonnenblume mit grossen Achänen, harter Fruchtschale und grossem, locker sitzendem Kern (= Verzehrtyp).

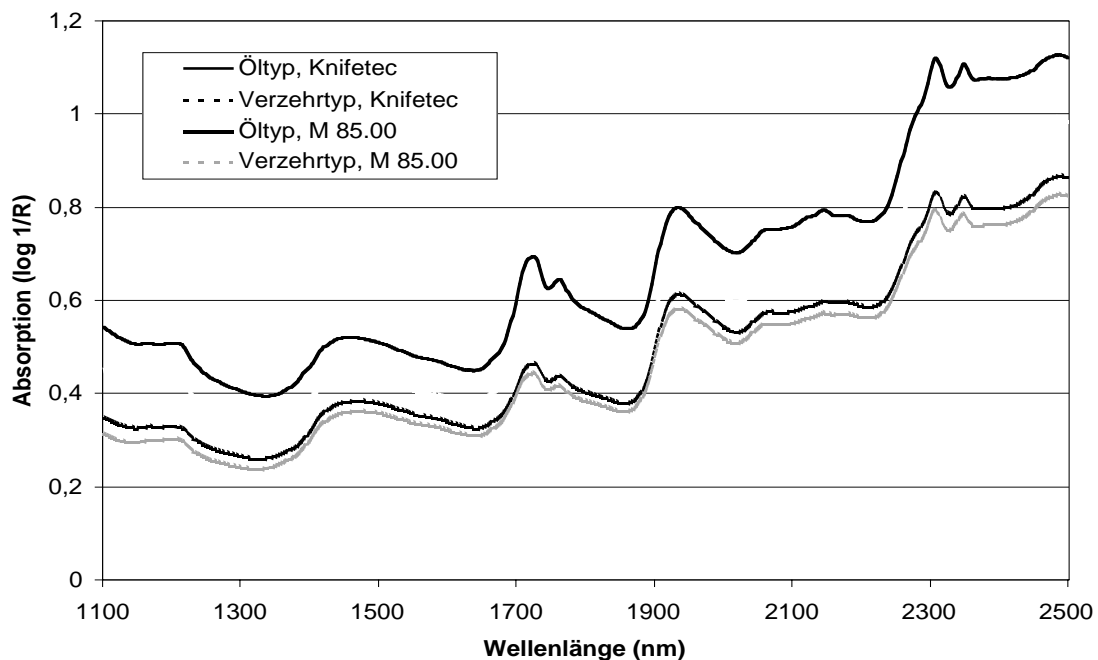
Dieses Material wurde zunächst hinsichtlich der Mahleigenschaften einer visuellen Bonitur unterworfen; ein Beispiel ist in Abb. 11 dargestellt. Das Vermahlen der Früchte des Öltyps führte zu einem etwas homogenen, aber bedingt durch den höheren Ölgehalt auch etwas weniger schütffähigem Material, während das Mahlgut des Verzehrtyps insgesamt inhomogener, aber schütffähiger war.





**Abb. 11: Mahlverhalten in Abhängigkeit vom Samentyp der Probe; Mühle Knifetec, 2 + 10 sec.**

Die Betrachtung der resultierenden Spektren zeigt deutliche Unterschiede der Absorptionswerte zwischen unterschiedlichen Sonnenblumentypen; die beiden Spektren des Öltyps weisen zusätzlich auch auf Unterschiede bezüglich der verwendeten Mühle hin (vgl. Abb. 12).



**Abb. 12: Absorptionswerte (Mittelwerte aus jeweils fünf Spektren derselben Probe) in Abhängigkeit von Wellenlänge, Samentyp der Probe und Mühle**

Die Betrachtung der Standardabweichungen zwischen den einzelnen Messung der vier Varianten zeigt, dass diese Werte auch hier, wie schon beim Mühlenvergleich gezeigt, in der Größenordnung eines statistischen Rauschens anzusiedeln sind (vgl. Tab. 5); dies bedeutet, dass jede Variante für sich betrachtet, ausreichende Reproduzierbarkeit gewährleistet, aber die Unterschiede zwischen den Mühlen und den Sonnenblumentypen zu berücksichtigen sind.

**Tab. 5: Standardabweichungen der Absorptionswerte (berechnet aus jeweils fünf Spektren derselben Probe) in Abhängigkeit von Samentyp der Probe und Mühle**

	<b>Mittelwert</b>	<b>Min.</b>	<b>Max.</b>
<b>Öltyp, Knifetec</b>	0,009	0,003	0,018
<b>Öltyp, M 85.00</b>	0,007	0,003	0,015
<b>Verzehrtyp, Knifetec</b>	0,003	0,001	0,005
<b>Verzehrtyp, M 85.00</b>	0,004	0,002	0,006

### **3.2 Kalibrationsentwicklung/Validierung**

Wie in Abschnitt 2.2.6 beschrieben, wurden insgesamt 103 verschiedene Berechnungen durchgeführt, um herauszufinden, mit welchem Kalibrationsverfahren und welchen Datentransformationen die besten Ergebnisse zu erzielen sind. Eine vollständige Übersicht über alle Berechnungen ist dem Anhang (Tab. A6) zu entnehmen; in der Tabelle 6 aufgeführten Daten beschränken sich auf die besten Ergebnisse für jedes NIRS-Gerät und die zum Einsatz gekommenen Probensets (Set 1, Set 2, Set 1+2 sowie die nur am InfraAlyzer aufgenommenen Ganzkornscans des Set1, „1 GK“).



**Tab. 6: Ergebnisse der besten Kalibrationen; untersuchter Parameter: Ölsäure (%)**

Gerät	Set	Methode	Datenvorbehandlung	SEC	R <sup>2</sup>	SECV	1-VR	SEP	SEP(C)
NIRSystems	1	MPLS	2. Abl./SNV detrend	0,59	0,99	0,67	0,99	0,58	0,57
	2	PLS	2. Abl./SNV detrend	0,64	0,99	0,68	0,99	0,67	0,65
	1+2	MPLS	2. Abl./SNV detrend	0,49	1,00	0,58	0,99	0,65	0,65
InfraAlyzer	1	PLS	1. Abl. + MSC	1,08	0,98	1,43	0,96	1,37	1,38
	2	PLS	1. Abl. + MSC	1,04	0,98	1,43	0,96	1,15	1,15
	1+2	PLS	1. Abl. + MSC	1,08	0,98	1,34	0,96	1,27	1,21
	1 GK	MPLS	1. Ableitung	4,62	0,63	5,28	0,51	4,09	3,86
Infratec	1	MPLS	ohne	2,29	0,91	2,84	0,86	3,34	3,37

Die in der Tabelle enthaltenen Abkürzungen der statistischen Parameter zur Beurteilung einer Kalibration sind nachfolgend kurz erläutert (vgl. TILLMANN 1996):

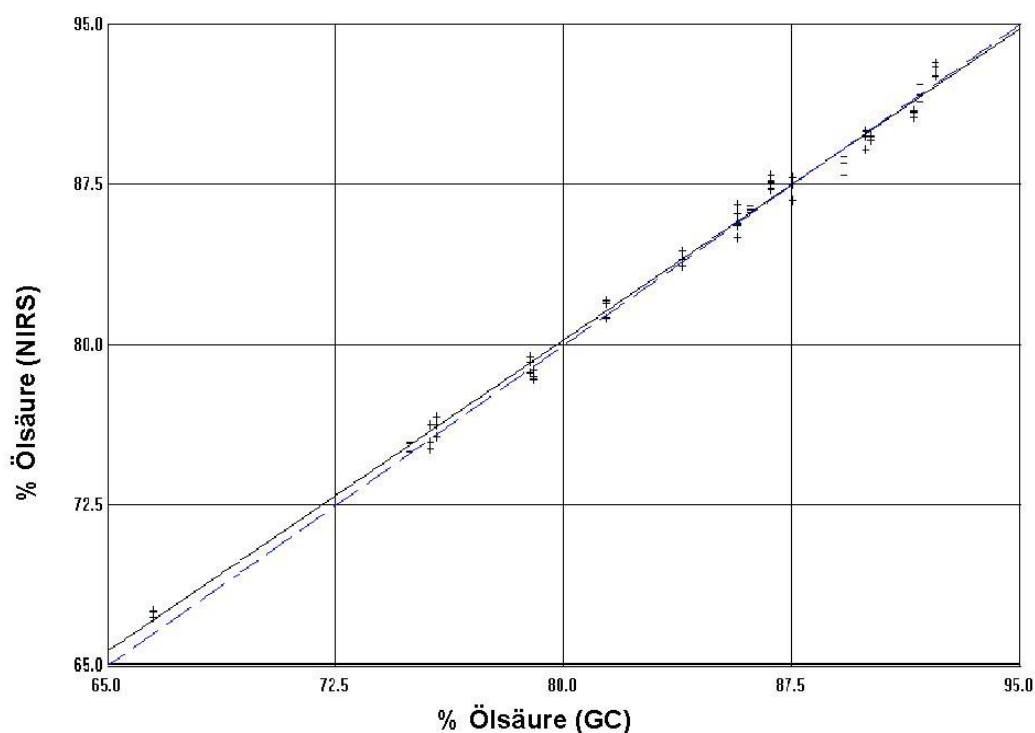
- SEC: Standardfehler der Kalibrierung; berechnet als Standardabweichung aller NIR-System-Analysenwerte von den Referenzwerten der Kalibrierproben; gleiche Einheit wie das zu untersuchende Merkmal
- R<sup>2</sup>: Bestimmtheitsmaß von SEC; einheitenlos, zwischen 0 und 1, gute Werte für die hier zu behandelnde Fragestellung sind grösser als 0,9
- SECV: Standardfehler der Kreuzvalidierung; diese wird durchgeführt, um die notwendige Anzahl Faktoren für die Kalibrierung festzulegen, Überanpassung äussert sich in einem Anstieg des SECV
- 1-VR: Bestimmtheitsmaß von SECV
- SEP: Standardfehler der Validierung; gleiche Einheit wie das zu untersuchende Merkmal
- SEP(C): SEP korrigiert um den systematischen Fehler (bias)

Aus den dargestellten Zahlen ist ersichtlich, dass die Ergebnisse der Kalibrierungen und Validierungen für die gemahlten Proben durchweg günstiger ausfallen, als dies bei Verwendung von intakten Achänen (= „Ganzkorn“, GK) der Fall ist. Allerdings wird auch deutlich, dass bei den gemahlten Proben zur Erzielung guter Vorhersagegenauigkeiten die Bildung von Ableitung und die Nutzung von Streulichtkorrekturen wie *standard normal variate and detrend* (SNV/detrend) oder *multiplikative scatter correction* (MSC) erforderlich sind.

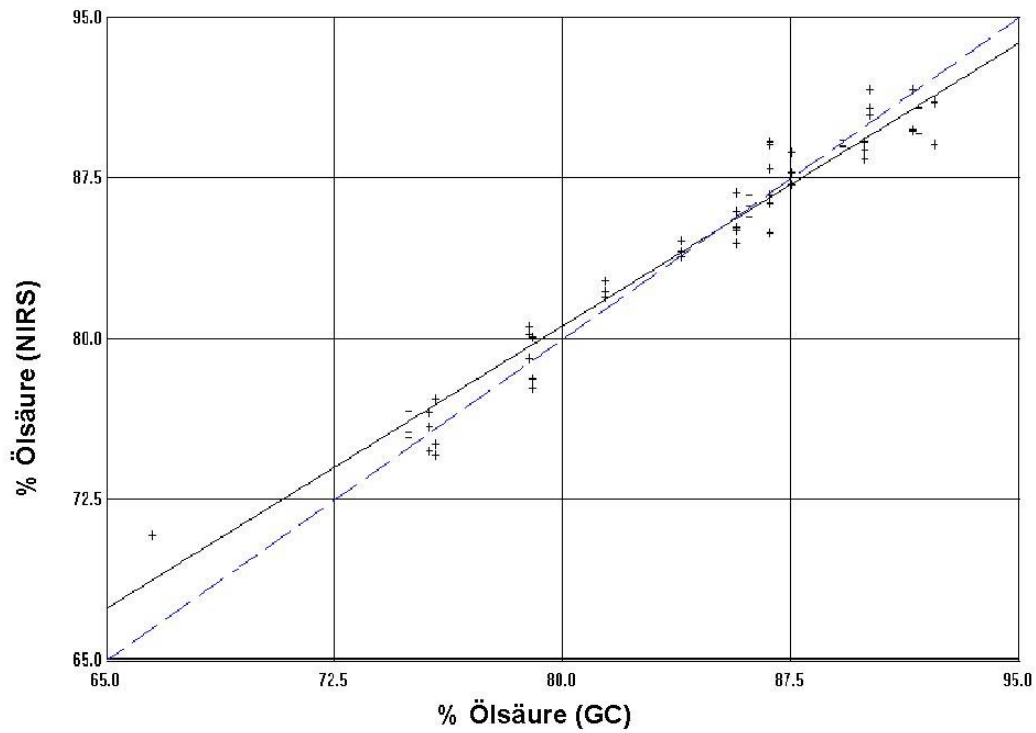
Bei der Variante „Ganzkorn“ werden die besten Ergebnisse bei Verwendung der 1. Ableitung, aber ohne weitere Datentransformation erzielt; die Kalibration auf dem nach dem Transmissionsprinzip arbeitenden Infratec-Spektrometer kommt völlig ohne Datenvorbehandlung aus. Allerdings sind die Resultate für die beiden letztgenannten Varianten insgesamt deutlich schlechter.

Die nachfolgenden drei Abbildungen 13 bis 15 sollen die hier erzielten Resultate der Validierungen exemplarisch veranschaulichen. Ausgewählt wurden hierfür zwei Varianten der gemahlten Proben; zum Vergleich ist das Ergebnis der Ganzkornvalidierung dargestellt.

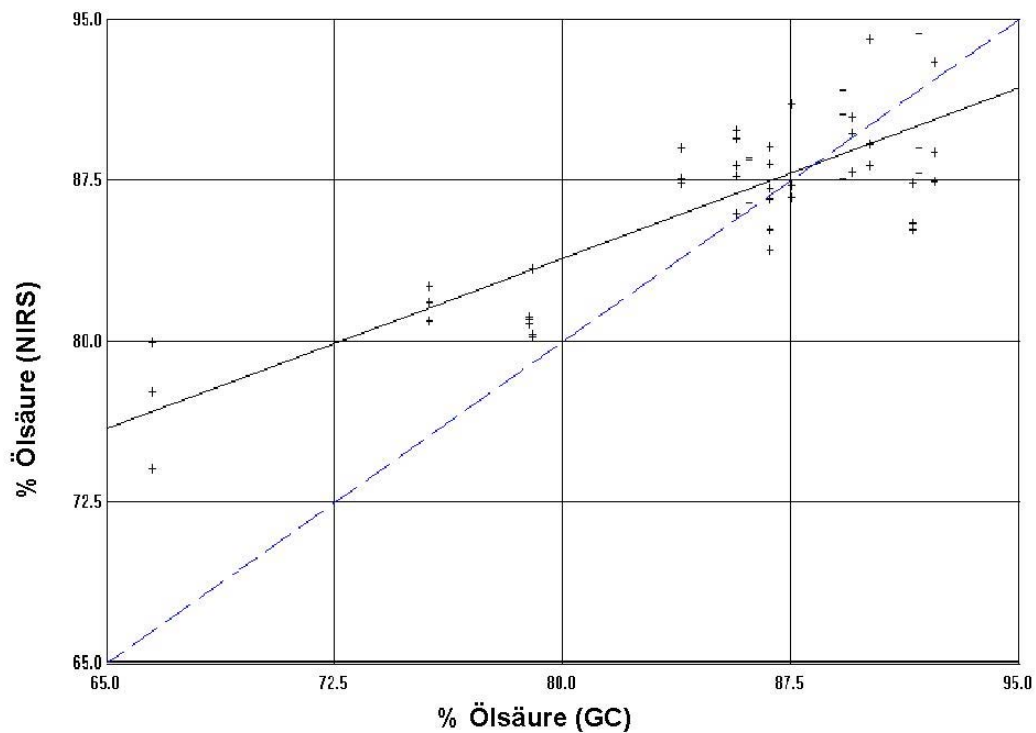
Die Darstellungen veranschaulichen, dass die Vorhersagegenauigkeiten bei der Verwendung von gemahlten Proben wesentlich besser ausfallen als bei der Kalibrierung mit intakten Achänen der Sonnenblume.



**Abb. 13: Validierungsergebnisse, NIRSystems 6500, Proben-  
set 1, gemahlen (Methode: 1100-2500 nm, MPLS, 2.  
Abl./SNV and detrend)**



**Abb. 14: Validierungsergebnisse, InfraAlyzer 500, Probenet 1, gemahlen (Methode: 1100-2500 nm, PLS, 1. Abl./MSC)**



**Abb. 15: Validierungsergebnisse, InfraAlyzer 500, Probenet 1, Ganzkorn (Methode: 1100-2500 nm, MPLS, 1. Ableitung)**

# 4 Diskussion

## **4.1 Einfluss der Probenvorbehandlung und Vermahlung**

Die ordnungsgemäße Vorbehandlung des Probenmaterials ist für die Verlässlichkeit der NIRS-Analytik ein entscheidender Faktor (VDLUFA 2000). Beim Umgang mit gemahlten Proben, wie im Rahmen dieser Untersuchung vorgesehen, spielen dabei Parameter wie Homogenität der Probe und die Partikelgrößenverteilung der aufgearbeiteten Probe eine wichtige Rolle. Zu grosse Partikel stören die Kalibration und die Messung, so dass z.B. die Standardabweichungen ansteigen (BERÜTER et al. 2000).

Da in Bezug auf das Vermahlen von Sonnenblumensaat zur NIRS-Analytik keine Erfahrungen vorliegen, sollten die hier durchgeführten Vorversuche zunächst die Erarbeitung einer reproduzierbaren und praxistauglichen Methodik zur Probenvorbehandlung und Probenpräsentation ermöglichen.

Die in Abschnitt 3.1.1 dargestellten Ergebnisse zeigen, dass für jede Mühle eine bestimmte Mindestmahlzeit zur Erzielung eines feinkörnigen und homogenen Materials erforderlich ist; eine Intervallvermahlung mit einem Mischvorgang erweist sich als vorteilhaft. Zu langes Mahlen ist jedoch aus Gründen der Erwärmung und der Agglomerationsbildung zu vermeiden (BERÜTER 2000). Es konnte festgestellt werden, dass auch die eingesetzte Menge des Probenmaterials das Resultat beeinflussen kann; für jede Mühle ist deshalb eine optimale Befüllungsmenge zu ermitteln. Die Mahlversuche kommen zu dem Ergebnis, dass Unterschiede zwischen den Mühlen zu beachten sind und für jede Mühle ein geeignetes Vermahlungsprotokoll zu erarbeiten ist. Ist ein solches Protokoll entwickelt, zeigen die einzelnen Messungen eine gute Reproduzierbarkeit, wie anhand der Berechnung der spektralen Standardabweichungen nachgewiesen werden kann.

Die Untersuchungen zum Einfluss unterschiedlicher Probenfeuchten (vgl. 3.1.2) machen deutlich, dass der Feuchtegehalt der Proben aus zwei Gründen berücksichtigt werden sollte. Zum einen konnte festgestellt werden, dass die Vermahlungseignung des Probenmaterials mit zunehmendem Wassergehalt abnimmt, andererseits wirkt sich der Feuchtegehalt auch auf den Spektrenverlauf, insbesondere im Bereich der Wasserbanden aus. Beide Effekte treten allerdings erst bei höheren Feuchten ausgeprägt in Erscheinung; bis ca. 9 % Feuchte sind die Unterschiede gering. Unter Berücksichtigung einer maximal zulässigen Lagerfeuchte von 9 % (= Standardqualität für Ölsaaten) ist jedoch davon auszugehen, dass dieser Faktor beim Praxiseinsatz der NIRS-Methode geringe Probleme bereiten wird, da die zu untersuchenden Partien ohnehin der Standardqualität entsprechen müssen und deshalb bei Bedarf zu trocknen sind.

Auch die Ergebnisse zu Lagerfähigkeit der gemahlten Proben (vgl. 3.1.3) sind im Hinblick auf die Praktikabilität der Methode als positiv zu bewerten; es konnte gezeigt werden, dass sich die Einflüsse des Lagermaterials und der Lagerbedingungen im untersuchten Zeitraum von fünf Tagen anscheinend nicht gravierend auf den Verlauf der Spektren auswirken; für eine längere Lagerung, beispielsweise für die Aufbewahrung von Rückstellmustern, sollte jedoch zur Vermeidung von Oxidationsprozessen eine Lagerung unter N<sub>2</sub> vorgesehen werden.

Die durchgeführten Mahlversuche mit zwei unterschiedlichen Sonnenblumentypen (Öl- bzw. Verzehrtyp; vgl. 3.1.4) führen zu dem Ergebnis, dass die morphologischen Eigenschaften des jeweiligen Achäentyps zu unterschiedlichen Mahlergebnissen und Spektrenverläufen führen können. Berücksichtigt man dabei, dass hier bewusst als ein Extrem die Früchte einer Verzehrsonnenblume verwendet wurden, während die Achänen der im Anbau befindlichen Sorten zur Ölgewinnung eher dem „Öltyp“ entsprechen, wird dieser Sachverhalt im Praxiseinsatz der Methode sicher keine gravierenden Probleme bereiten. Sollten Sorten mit abweichender Achänenmorphologie zur Untersuchung anstehen, wäre gegebenenfalls das Vermahlungsprotokoll für diese Proben anzupassen.

Als Konsequenz aus den dargestellten Vorversuchen wurden die in Abschnitt 2.2.3 aufgeführten Vermahlungsprotokolle erarbeitet und diese bei den nachfolgenden Kalibrationsentwicklungen eingesetzt.

#### **4.2 Entwickelte Kalibrationen**

Da NIRS-Methoden immer auf der Entwicklung von Kalibrationsgleichungen und Validierungen auf Basis einer Referenzmethode – bei Fettsäuren beispielsweise die Ergebnisse einer gaschromatographischen Analyse – beruhen, kann eine Bewertung der NIRS-Methode letztendlich nur im Vergleich mit dieser Referenzmethode vorgenommen werden (TILLMANN 1996). In der Regel erfolgt eine Aussage über die Präzision einer standardisierten Untersuchungsmethode nach Durchführung entsprechender Ringversuche; ermittelt werden dabei unter anderem die Wiederhol- und Vergleichsgrenze (ANONYMUS 2002). Die Präzision einer Methode ist dabei nicht nur vom zu untersuchenden Parameter, sondern auch vom untersuchten Produkt abhängig; die Ursache hierfür liegt in unterschiedlichen Inhaltsstoffkonzentrationen sowie in produktspezifischen Eigenschaften (TILLMANN 1997), so dass die Ergebnisse von Ringversuchen an verschiedenen Produkten nur bedingt vergleichbar sind. Leider liegen für die gaschromatographische Bestimmung des Fettsäuremusters bei Sonnen-

blumensaat keine Ergebnisse derartiger Ringversuche vor, so dass eine eindeutige Einordnung der hier erzielten Ergebnisse nach unserem Kenntnisstand derzeit nicht möglich ist.

Um dennoch eine Einschätzung der hier erzielten Ergebnisse vornehmen zu können, erfolgt ein Vergleich mit bislang publizierten Daten zur gleichen Thematik. PAZDERNIK et al. (1997) berichten von einem SEL (standard error of the lab, Standardfehler wiederholter Laboruntersuchungen; vgl. TILLMANN 1996) von 0,4 % für die gaschromatographische Bestimmung des Ölsäuregehaltes bei Sojabohnen (vgl. Tab. 8); VELASCO et al. geben einen SEL von 0,71 % für dieselbe Methode bei *Brassica carinata* an. REINHARDT (1992) gibt für die „Langzeit-Reproduzierbarkeit“ der Ölsäurebestimmung bei Raps mit dem GC innerhalb eines Labors (entspricht SEL) einen Wert von 1,47 % an.

In der Tabelle 8 sind beispielhafte Ergebnisse verschiedener NIRS-Methoden – sowohl für Sonnenblumen als auch für weitere Ölsaaten zusammengestellt. Die Erstellung der aufgeführten Kalibrationen erfolgte durchweg mit dem NIR-Systems 6500 unter Verwendung des MPLS-Algorithmus nach Bildung der 2. Ableitung, meist in Verbindung mit der Datentransformation „SNV and detrend“. Der gesamte Wellenlängenbereich des Gerätes (400 bis 2500 nm) wurde eingeschränkt auf den Bereich zwischen 1100 und 2500 nm, da dies nach PEREZ-VICH et al. (1998) zu besseren Ergebnissen als die Verwendung des Gesamtbereiches führt. Die Angaben in den zitierten Publikationen decken sich weitgehend mit den Ergebnissen der eigenen Untersuchung; auch hier konnten – zumindest auf dem NIR-Systems 6500- mit dieser Vorgehensweise die besten Resultate erzielt werden (vgl. Tab. 6).

Für das zweite in dieser Untersuchung eingesetzte NIRS-Gerät – InfraAlyzer 500 – liegen nach unserem Kenntnisstand keine publizierten Kalibrationen für den Parameter „Ölsäuregehalt in Ölsaaten“ vor. SATO et al. (1995) und SATO et al. (1998) weisen zwar gute Korrelationen zwischen den Absorptionswerten an bestimmten Wellenlängen und den Gehalten verschiedener Fettsäuren bei Sonnenblumen bzw. Raps nach, es erfolgt jedoch keine Angabe über statistische Parameter einer daraus abgeleiteten NIRS-Methode.

Vergleicht man die in Tab. 6 und der Anhangtab. A6 aufgeführten eigenen Ergebnisse mit den in Tab. 8 enthaltenen Werten aus der Literatur, wird ersichtlich, dass die eigenen Ergebnisse – mit Ausnahme der Kalibrationen für reines Sonnenblumenöl und für gemahlene oder ganze Sojabohnen – als durchaus akzeptabel bezeichnet werden können. Es wird allerdings auch deutlich, dass die Vorhersagegenauigkeit der

NIRS-Methoden auf der einen Seite vom Zustand des Untersuchungsmaterials und auf der anderen Seite von der Bandbreite des Ölsäuregehaltes abhängt; je grösser die Variation dieses Inhaltsstoffs, desto höhere Ungenauigkeiten treten auf. Bei der Sonnenblume fällt besonders der Anstieg der Werte für SEC und SECV bei Verwendung von Öl, über Mehl aus geschälten Früchten bis hin zur Ganzkornmessung auf (PEREZ-VICH et al. 1998); ein Umstand der auch durch die hier vorliegende Untersuchung bestätigt wird.

Interessant ist auch der Vergleich der auf den verschiedenen Spektrometern erzielten Ergebnisse. Während die besten Kalibrationen mit dem NIRSystems 6500 für beide Probensets sowie für die Kombination beider Sets stets unter Verwendung der 2. Ableitung und SNV/detrend erzielt wurden, führte beim InfraAlyzer 500 bei Verwendung völlig identischer Proben jeweils die Verwendung der 1. Ableitung in Verbindung mit MSC als *scatter correction* zu den besten Ergebnissen. Eine Ausnahme bildet lediglich die „Ganzkorn-Variante“ (vgl. Tab. 6). Als mögliche Ursachen für die festgestellten Geräteunterschiede kommen verschiedene Strahlungsstärken sowie unterschiedlich empfindliche Detektoren infrage. Ob sich mit NIRSystems grundsätzlich die besseren Resultate erzielen lassen, können jedoch erst weitergehende Untersuchungen zeigen.

Als drittes Gerät kam das NIT-Spektrometer Infratec 1241 zum Einsatz, da dieses Gerät im Landhandel weit verbreitet ist und deshalb hinsichtlich der Einsetzbarkeit für die Untersuchung von Sonnenblumensaat geprüft werden sollte. Hier traten jedoch anfänglich technische Schwierigkeiten auf, so dass nicht das vollständige Untersuchungsprogramm durchgeführt werden konnte. Es erfolgte lediglich eine Kalibrationsentwicklung unter Verwendung des Probenset 1 (vgl. Anhangtab. A6). Die Vorhersagegenauigkeit blieb jedoch deutlich hinter der der beiden übrigen Geräte zurück; ein Umstand, der damit begründet werden kann, dass die für die Bestimmung von Fettsäuren relevanten Wellenlängen von ca. 1600-1800 nm sowie 2100-2200 nm (SATO et al. 1995, PEREZ-VICH et al. 1998, VELASCO et al. 1999) von diesem Gerät nicht erfasst werden. Allerdings berichtet die Herstellerfirma des Gerätes von akzeptablen Ergebnissen bei der Vorhersage von Öl- und Feuchtegehalten an gemahlener Sonnenblumensaat (VON BOISMAN 2002), so dass es durchaus angebracht erscheint, auch die Eignung dieses Gerätes in weitergehenden Untersuchungen zu überprüfen; möglicherweise können auch mit dem NIT-Gerät Kalibrationen entwickelt werden, mit denen eine erste Vorsortierung verschiedener Qualitäten bei der Ernte bzw. der Erfassung durch den Landhandel vorgenommen werden kann.

Es ist bekannt, dass der Feuchtegehalt der Proben zur Zeit der Messung die Vorhersagegenauigkeit anderer Parameter beeinflussen kann. Aus diesem Grund sollte ge-

prüft werden, wie sich die Ergebnisse verändern, wenn mehrere Spektren derselben Probe mit variierenden Feuchtegehalten in die Kalibrationsberechnung einbezogen werden (= R-Datei; vgl. TILLMANN 1997). Das Ziel ist es dabei, die Kalibrationsfunktion möglichst unempfindlich gegen äussere Einflüsse, wie beispielsweise unterschiedliche Probenfeuchten, zu gestalten. Wie in Tab. 3 aufgeführt, erfolgte dies mit zwei Proben, die mit je drei unterschiedlichen Feuchten gescannt wurden. In der Tab. 7 sind die Ergebnisse zu dieser Fragestellung enthalten; es ist zu erkennen, dass die Einbindung der „Feuchtedatei“ (Feuchted.) in diesem Fall zu keiner gravierenden Verbesserung der Vorhersage geführt hat. Es ist allerdings zu bedenken, dass in dieser Untersuchung sowohl die Kalibrier- als auch die Validierproben unter denselben äusseren Bedingungen gemessen wurden; die Feuchtegehalte betragen zur Zeit der Messung 3,0-6,4% bzw. 5,2-6,5 %. Es sollte in weiteren Untersuchungen deshalb geprüft werden, ob eine solche Vorgehensweise bei Einsatz der NIRS-Methode unter Praxisbedingungen, also bei der Messung von Proben mit Feuchtegehalten bis 9% oder bei der Vernetzung mehrerer NIRS-Geräte Vorteile bringt; diese Frage kann nach der hier vorliegenden Untersuchung nicht abschliessend geklärt werden. Beispielsweise könnte geprüft werden, ob sich unterschiedliche Probenfeuchten in der Validierung auswirken würden, d.h. bei Messung feuchter Proben mit einer Kalibration, die getrocknete Proben enthält im Vergleich zur Messung derselben Proben mit einer Kalibration, die eine „Feuchtedatei“ enthält.

**Tab. 7: Einfluss der Einbindung einer „Feuchtedatei“ auf die Kalibrationsergebnisse, Probenet 1**

Gerät	Feuchted.	Methode	Datenvorbh.	SEC	SECV	SEP	SEP(C)
NIRSystems	ohne	MPLS	2. Abl./SNV detrend	0,59	0,67	0,58	0,57
	mit	MPLS	2. Abl./SNV detrend	0,38	0,51	0,61	0,61
InfraAlyzer	ohne	PLS	1. Abl./MSC	1,08	1,43	1,37	1,38
	mit	PLS	1. Abl./MSC	1,14	1,49	1,15	1,15

Die Ergebnisse der Vorversuche haben gezeigt, dass Unterschiede zwischen den Mühlen zu beachten sind und für jede Mühle ein geeignetes Vermahlungsprotokoll zu erarbeiten ist. Ist ein solches Protokoll entwickelt, zeigen die einzelnen Messungen eine gute Reproduzierbarkeit, wie anhand der Berechnung der spektralen Standardabweichungen nachgewiesen werden konnte. Bei der Kalibrationsentwicklung, bei der die Proben nach für jede Mühle geeigneten Protokollen vorbereitet wurden (= Probenet 1 bzw. 2), bestätigte sich, dass die Güte der Vorhersagegenauigkeit anscheinend nur geringfügig von der Art der verwendeten Mühle abhängt (vgl. Tab. 6).



Für die Praxis könnte dies bedeuten, dass es nicht erforderlich ist, eine teure Mühle anzuschaffen; auch der Einsatz einer einfachen Haushalts- oder Labormühle ist möglich, sofern ein für diese Mühle geeignetes, standardisiertes Mahlprotokoll eingehalten wird.

**Tab. 8: Übersicht über publizierte Kalibrationen zur Bestimmung des Ölsäuregehaltes (% der Gesamtfettsäuren), Wellenlängenbereich 1100-2500 nm; NIRSystems 6500**

Frucht	Zustand	Methode	Datentrans.	SEC	SECV	SEP	Quelle	Anmerkungen
SB	Öl	MPLS	2. Abl./SNV detrend	0,67	1,09		Perez-Vich et al. 1998	Ölsäuregeh. 8-90%
SB	Mehl	MPLS	2. Abl./SNV detrend	2,10	3,12		Perez-Vich et al. 1998	Früchte vorher geschält
SB	Früchte geschält	MPLS	2. Abl./SNV detrend	2,59	3,98		Perez-Vich et al. 1998	„
SB	GK	MPLS	2. Abl./SNV detrend	6,75	8,94	8,75	Perez-Vich et al. 1998	„
SB	GK	MPLS	2. Abl./SNV detrend	7,1	8,6	9,9	Velasco et al. 1999a	einzelne Achänen, ÖS 10-66%; 77-91%
SB	GK	MPLS	2. Abl./SNV detrend			16,1-17,9	Velasco et al. 1999a	einzelne Achänen; spaltende F2-Population

Fortsetzung Tab. 8

Frucht	Zustand	Methode	Datentrans.	SEC	SECV	SEP	Quelle	Anmerkungen
Raps	GK	MPLS	Versch.	1,77-2,34		2,5-3,0	Reinhardt 1992	
Raps	GK					1,9	Tillmann und Reinhardt 1998	
Raps	GK				1,5	1,9-2,6	Velasco et al. 1998a	
Raps	GK	MPLS	2. Abl./SNV detrend	2,36	3,21		Velasco und Becker 1998	Proben v. Einzelpflanzen, 10-82% ÖS, inkl. E-Raps, 3g/Probe; wenn weniger, schlechtere Ergeb.
Raps	GK	MPLS	2. Abl.		8,44	8,94	Velasco et al. 1999b	Inkl. E-Raps; ÖS 7-85%, einzelne Körner
Raps	GK	MPLS	2. Abl.		3,39	2,73	Velasco et al. 1999b	Ohne E-Raps; ÖS 51-85%, einzelne Körner
Abess. Senf	GK	MPLS	2. Abl./SNV detrend	0,5-1,65	1,12-1,81	1,46-2,58	Velasco et al. 1997	ÖS ca. 6-40%, SEL 0,72%
Brassica ssp.	GK	MPLS	2. Abl./SNV detrend		3,65	3,71	Velasco et al. 1998b	17 versch. <i>Brassica</i> -Spezies
Soja	Mehl	MPLS	2. Abl./SNV detrend	0,5	0,6	0,4	Pazdernik et al. 1997	ÖS-Gehalte ca. 16-26% SEL 0,4%
Soja	GK	MPLS	2. Abl./SNV detrend	0,6	0,8	1,5	Pazdernik et al. 1997	„ „

### **4.3 Ausblick**

Die durchgeführte Untersuchung hat gezeigt, dass die Nahinfrarotspektroskopie eine geeignete Methode zur Bestimmung des Ölsäuregehaltes von HO-Sonnenblumen darstellt. Es bleibt dabei festzuhalten, dass für einen Praxiseinsatz eine Weiterentwicklung der Methodik erfolgen sollte, in der folgenden Punkte zu berücksichtigen sind:

- Die Optimierung der Kalibrationen für die verschiedenen Gerätetypen
- Die Durchführung von Untersuchungen zu den Ursachen der Geräteunterschiede
- Eine Erweiterung der Probenbasis
- Die Einbeziehung konventioneller Sonnenblumen
- Die Ergänzung um weitere qualitätsrelevante Parameter (Ölgehalt, Feuchte, freie Fettsäuren u.a.)
- Einsatz der Kalibrationen in einem Netzwerk von NIRS-Geräten

Eine Weiterentwicklung der hier aufgezeigten Ansätze könnte dann zu einem universellen Nutzen für Züchtung, Anbau, Vermarktung und Verarbeitung von Sonnenblumensaat führen.

## **5 Zusammenfassung**

Neben der Stabilisierung der Ertragssicherheit von High-Oleic-(HO) Sonnenblumen in Deutschland ist vor allem eine gesicherte Erfassung der verschiedenen HO-Qualitäten des Ernteguts erforderlich. Hierfür bietet sich die Bestimmung des Ölsäuregehaltes mit Hilfe der Nahinfrarotspektroskopie (NIRS) an, denn nur die sichere Erfassung der verschiedenen Sonnenblumenölqualitäten ermöglicht die optimale Verwertung und Wertschöpfung dieses Rohstoffs.

Das Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, eine NIRS-Methode an gemahlener Sonnenblumensaat zu entwickeln, die eine Vorhersage der Ölsäuregehalte mit hinreichender Genauigkeit ermöglicht, aber zeit- und kostensparender als die herkömmlich eingesetzte Gaschromatographie ist.

Für die vorliegende Untersuchung standen insgesamt 161 unterschiedliche Saatgutproben zur Verfügung (16 verschiedene High-Oleic-Sonnenblumensorten von 31 Standorten aus drei Erntejahren). Die Spannweite der Ölsäuregehalte betrug 64,2-92,4%.

Die Entwicklung der Kalibrationen erfolgte an zwei in Reflektion messenden und einem in Transmission messendem Spektrometer unterschiedlicher Hersteller. (INFRAALYZER 500, NIRSYSTEMS 6500 und INFRATEC 1241 Grain Analyzer).

Zur Zerkleinerung der Sonnenblumenproben wurden drei verschiedene Schneidmühlen aus unterschiedlichen Preisklassen vergleichend eingesetzt (Haushalts-Kaffeemühle, Modell *M 85.00*, der Firma *Petra electric*, Labor-Messermühle *Grindomix GM 200* der Firma *RETSCH*, Labor-Messermühle *Knifetec 1095 Sample Mill* der Firma *FOSS-Tecator*)

Vor der eigentlichen Kalibrationsentwicklung wurde eine reproduzierbare und praktikable Methode zur Vorbehandlung und Vermahlung der Proben erarbeitet, die dann nachfolgend zum Einsatz kam. Die Vorversuche dienten dazu, den Einfluß verschiedener Faktoren der Probenvorbehandlung und des Messvorgangs auf Abweichungen zwischen den NIRS-Spektren dieser Proben zu untersuchen, um eine größtmögliche Reproduzierbarkeit bei möglichst geringem Aufwand zu gewährleisten.

Aus den zur Verfügung stehenden Proben wurden zwei unterschiedliche Probensets mit jeweils 70 Proben zusammengestellt (50 zur Kalibrierung, 20 unabhängige Proben zur Validierung).

Bei der Verteilung der Proben auf die beiden Sets fanden die Sorte, die Herkunft sowie der Ölsäuregehalt Berücksichtigung, um zu gewährleisten, dass sich beide Sets in diesen wesentlichen Parametern so ähnlich wie möglich waren.

Mit den an den drei Spektrometern aufgenommen Spektren wurden eine Vielzahl unterschiedlicher Kalibrationen berechnet, um herauszufinden, mit welchem Kalibrationsverfahren und welchen Datentransformationen die besten Ergebnisse zu erzielen sind. In allen Fällen wurde eine Kreuzvalidierung durchgeführt, um die Anzahl der notwendigen Faktoren für die Kalibrierung zu bestimmen und so eine Überanpassung zu vermeiden. Weiterhin wurde jede Kalibrationsgleichung mit den vorher festgelegten, unabhängigen Validierproben validiert.

Aus den erzielten Ergebnissen ist abzuleiten, dass die Nahinfrarotspektroskopie eine geeignete Methode zur Bestimmung des Ölsäuregehaltes von HO-Sonnenblumen darstellt. Es sind jedoch gerätespezifische Unterschiede deutlich geworden, die einer weiteren Klärung bedürfen. Insgesamt sollten die nachfolgend aufgeführten Punkte in weiteren Untersuchungen berücksichtigt werden, um eine praxistaugliche und leistungsfähige Methodik zur Verfügung stellen zu können: Optimierung der Kalibrationen für die verschiedenen Gerätetypen, Erweiterung der Probenbasis, Einbeziehung konventioneller Sonnenblumen, Ergänzung um weitere Parameter (Ölgehalt, Feuchte, freie Fettsäuren u.a.), Vernetzung mehrerer NIRS-Geräte.

## 6 Literaturverzeichnis

- ANONYMUS, 2002: Planung und statistische Auswertung von Ringversuchen zur Methodvalidierung. Amtliche Sammlung §35 LMBG, Mai 2002
- BAETZEL, R., 2002: Schriftliche Mitteilung zur Durchführung der GC-Analysen, Giessen, 2002
- BERÜTER, B., J. FÄSSLER, K. JEHLE, 2000: Homogenisierung – ein kritischer Schritt in der Probenvorbereitung. GIT Labor-Fachzeitschrift 44: 1432-1434
- MARQUARD, R., 1987: Qualitätsanalytik im Dienste der Ölpflanzenzüchtung. Fett Wissen. Technol. 89, 95-99
- PAZDERNIK, D. L., A. S. KILLAM, J. H. ORF, 1997: Analysis of amino and fatty acid composition in Soybean seed, using near-infrared reflectance spectroscopy. Agronomy J. 89, 679-685
- PEREZ-VICH, B., L. VELASCO, J.M. FERNANDEZ-MARTINEZ, 1998: Determination of seed oil content and fatty acid composition in Sunflower through the analysis of intact seeds, husked seeds, meal and oil by near-infrared reflectance spectroscopy. J. Am. Oil Chem Soc. 75 (5) 547-555
- REINHARDT, T.-C., 1992: Entwicklung und Anwendung von Nah-Infrarotspektroskopischen Methoden für die Bestimmung von Öl-, Protein-, Glucosinolat-, Feuchte- und Fettsäuregehalten in intakter Rapssaat. Cuvillier-Verlag Göttingen, 129 S.
- SATO, T., Y. TAKAHATA, T. NODA, T. YANAGISAWA, T. MORISHITA, S. SAKAI, 1995: Nondestructive determination of fatty acid composition of husked sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds by near-infrared spectroscopy. J. Am. Oil Chem Soc. 72 (10) 1177-1183
- SATO, T., I. UEZONO, T. MORISHITA, T. TETSUKA, 1998: Nondestructive estimation of fatty acid composition in seeds of *Brassica napus* L. by near-infrared spectroscopy. J. Am. Oil Chem Soc. 75 (12) 1877-1881
- TILLMANN, P., 1996: Kalibrationsentwicklung für NIRS-Geräte: Eine Einführung. Cuvillier Verlag Göttingen
- TILLMANN, P., 1997: Qualitätsuntersuchung von Raps mit der vernetzten Nahinfrarotspektroskopie (NIRS). Cuvillier Verlag Göttingen
- TILLMANN, P. und T.-C. REINHARDT., 1998: Qualitätsbestimmung von Körnerraps mit der vernetzten Nahinfrarotspektroskopie (NIRS). UFOP-Schriften, Heft 12, 135-162
- VDLUFA, 1976: Bestimmung des Gehaltes an Feuchtigkeit und flüchtigen Bestandteilen in Ölsaaten. VDLUFA-Methodenbuch III, Die chemische Untersuchung von Futtermitteln, 3. Aufl., VDLUFA-Verl. Darmstadt
- VDLUFA, 2000: Arbeitsanleitung für NIRS-Untersuchungen an Körnerraps im Rahmen des Qualitätssicherungssystem NIRS/NIT.
- VELASCO, L., H.C. BECKER, 1998: Estimating the fatty acid composition of the oil in intact-seed rapeseed (*Brassica napus* L.) by near-infrared reflectance spectroscopy. Euphytica 101: 221-230

- VELASCO, L., J.M. FERNANDEZ-MARTINEZ, A. DE HARO, 1997: Determination of the fatty acid composition of the oil in intact-seed mustard by near-infrared reflectance spectroscopy. *J. Am. Oil Chem Soc.* 74 (12) 1595-1602
- VELASCO, L., B. PEREZ-VICH, J.M. FERNANDEZ-MARTINEZ, 1998a: A rapid and simple approach to identify different sunflower oil types by means of near-infrared reflectance spectroscopy. *J. Am. Oil Chem Soc.* 75 (12) 1883-1888
- VELASCO, L., F.D. HOFFMAN, H.C. BECKER, 1998b: Variability for the fatty acid composition of the seed oil in a germplasm collection of the genus *Brassica*. *Genetic Resources and Crop Evolution* 45:371-382
- VELASCO, L., B. PEREZ-VICH, J.M. FERNANDEZ-MARTINEZ, 1999a: Nondestructive screening for oleic and linoleic acid in single sunflower achenes by near-infrared reflectance spectroscopy. *Crop Sci.* 39:219-222
- VELASCO, L., C. MÖLLERS, H.C. BECKER, 1999b: Estimation of seed weight, oil content and fatty acid composition in intact single seeds of rapeseed (*Brassica napus* L.) by near-infrared reflectance spectroscopy. *Euphytica* 106:79-85
- VON BOISMAN, D., 2002: Schriftliche Mitteilung zur Kalibrationserstellung an Infratec-Geräten, FOSS-TECATOR, Höganäs, Schweden, 2002

# 7 Anhang

**Tab. A-1: Übersicht über die verwendeten Sorten und die Probenbereitsteller**

HO-Sonnenblumensorten bzw. –stämme	Cadasol, Capella, Carioca, Gamasol, Greco (Capri), Majus, MH 0211, Olbaril, Ol-savil, Olstaril, PR 64 H 61, Proleic, Sol K 5 MNSA 580, Sol K 8 MNSA 594, Sunny, XF 203
Probenbereitsteller	Bundessortenamt Hannover Dr. Frische GmbH, Alzenau Inst. f. Pflanzenbau und Grünlandwirt-schaft, FAL Braunschweig Inst. für Umweltgerechte Landwirtschaft Müllheim PIONEER HI-BRED, Buxtehude Thüringer Landesanstalt für Landwirt-schaft, Jena

**Tab. A-2: Ölsäure- und Feuchtegehalte, Kalibrationsproben des Probenet 1 (Grindomix GM 200)**

lfd. Nr	Erntejahr	% Ölsäure	% Feuchte
1	2001	91,9	5,3
2	2001	84,5	5,4
3	2001	90,1	5,1
4	2001	91,1	5,6
5	2001	88,5	5,1
6	2001	82,0	5,3
7	2001	88,3	3,9
8	2001	85,2	6,0
9	2001	85,4	5,6
10	2001	88,0	5,6
11	2001	85,7	5,5
12	2001	84,7	5,7
13	2001	87,5	5,1
14	2001	92,4	3,0
15	2001	89,4	4,2
16	1999	92,4	3,4
17	1999	90,6	3,9



## Fortsetzung Tab. A-2

lfd. Nr	Erntejahr	% Ölsäure	% Feuchte
18	2001	91,5	6,3
19	2001	89,4	6,4
20	2001	90,7	6,0
21	2001	91,8	5,7
22	2001	70,2	5,3
23	2001	67,8	5,7
24	2001	68,5	5,7
25	2001	70,4	5,5
26	2001	68,3	5,1
27	2001	69,5	5,5
28	2001	67,9	5,9
29	2001	75,6	6,1
30	2001	74,5	5,6
31	2000	87,1	6,0
32	2000	88,5	5,9
33	2000	80,2	6,1
34	2000	89,3	5,6
35	2000	81,4	5,6
36	2000	83,9	5,5
37	2000	87,8	5,7
38	2000	79,3	5,6
39	2000	84,0	5,4
40	2000	86,4	4,9
41	2000	79,0	4,7
42	2000	84,8	4,8
43	2000	83,6	5,0
44	2000	84,8	5,3
45	2001	76,8	5,8
46	2001	74,4	5,3
47	2001	87,7	5,2
48	2001	90,5	5,6
49	2001	91,5	5,6
50	2001	85,6	6,2
<b>Mittelwert</b>		<b>83,3</b>	<b>5,4</b>
<b>STABW</b>		<b>7,6</b>	<b>0,7</b>
<b>Max.</b>		<b>92,4</b>	<b>6,4</b>
<b>Min.</b>		<b>67,8</b>	<b>3,0</b>

**Tab. A-3: Ölsäure- und Feuchtegehalte, Validationsproben des Probenset 1 (Grindomix GM 200)**

lfd. Nr.	Erntejahr	% Ölsäure	% Feuchte
1	2001	90,1	5,8
2	2001	86,8	5,8
3	2001	89,2	5,7
4	2001	91,7	6,2
5	2001	91,5	6,2
6	2001	89,9	6,5
7	2001	92,2	5,7
8	2001	66,5	5,8
9	2000	75,6	6,2
10	2000	85,7	5,8
11	2000	87,5	5,6
12	2000	79,0	6,4
13	2000	86,8	5,6
14	2000	78,9	5,8
15	2000	83,9	5,6
16	2000	81,4	5,4
17	2000	85,7	5,7
18	2000	86,1	5,4
19	2001	74,9	5,7
20	2001	75,8	5,2
<b>Mittelwert</b>		<b>84,0</b>	<b>5,8</b>
<b>STABW</b>		<b>6,9</b>	<b>0,3</b>
<b>Max.</b>		<b>92,2</b>	<b>6,5</b>
<b>Min.</b>		<b>66,5</b>	<b>5,2</b>

**Tab. A-4: Ölsäure- und Feuchtegehalte, Kalibrationsproben  
des Probenset 2 (Petra M 85.00)**

lfd. Nr	Erntejahr	% Ölsäure	% Feuchte
1	2001	89,3	4,6
2	2001	89,7	4,6
3	2001	90,1	5,6
4	2001	91,9	6,3
5	2001	85,4	5,6
6	2001	88,0	5,6
7	2001	85,7	5,5
8	2001	87,0	6,1
9	2001	85,0	6,1
10	2001	83,8	5,1
11	2001	87,5	5,1
12	2001	89,7	4,2
13	1999	92,4	5,3
14	1999	91,2	4,6
15	2001	88,5	6,1
16	2001	91,2	6,2
17	2001	89,5	6,8
18	2001	91,8	6,2
19	2001	91,6	6,2
20	2001	68,7	5,3
21	2001	68,6	5,6
22	2001	67,6	5,4
23	2001	64,2	5,7
24	2001	67,6	5,9
25	2000	81,6	6,1
26	2000	86,9	6,0
27	2000	85,4	6,1
28	2000	82,2	5,3
29	2000	84,8	5,6
30	2000	87,4	5,8
31	2000	84,1	5,8
32	2000	79,2	6,1
33	2000	85,2	6,2
34	2000	85,0	6,0
35	2000	88,2	5,8
36	2000	81,2	6,1
37	2000	78,5	5,6
38	2000	84,7	6,0
39	2000	78,8	6,3
40	2000	82,5	5,8
41	2000	85,9	5,4
42	2000	87,3	5,5
43	2001	79,3	6,3
44	2001	77,3	5,8
45	2001	85,7	5,6
46	2001	88,9	6,4

### Fortsetzung Tab. A-4

lfd. Nr	Erntejahr	% Ölsäure	% Feuchte
47	2001	72,0	5,8
48	2001	88,8	5,8
49	2001	81,7	6,7
50	2001	89,2	6,0
<b>Mittelwert</b>		<b>84,0</b>	<b>5,8</b>
<b>STABW</b>		<b>7,0</b>	<b>0,5</b>
<b>Max.</b>		<b>92,4</b>	<b>6,8</b>
<b>Min.</b>		<b>64,2</b>	<b>4,2</b>

**Tab. A-5: Ölsäure- und Feuchtegehalte, Validationsproben des Probenset 2 (Petra M 85.00)**

lfd. Nr.	Erntejahr	% Ölsäure	% Feuchte
1	2001	82,1	5,3
2	2001	78,8	3,6
3	2001	89,8	5,6
4	2001	88,6	5,5
5	2001	81,0	4,9
6	2001	92,4	3,0
7	2001	91,9	6,2
8	2001	90,9	6,6
9	2001	91,1	6,4
10	2001	71,0	5,8
11	2001	69,6	5,5
12	2001	66,2	5,4
13	2001	75,7	6,3
14	2001	76,9	5,4
15	2000	86,7	5,6
16	2000	72,6	5,9
17	2000	82,7	6,0
18	2000	84,0	5,2
19	2000	86,9	5,1
20	2000	86,9	6,3
<b>Mittelwert</b>		<b>82,3</b>	<b>5,5</b>
<b>STABW</b>		<b>8,1</b>	<b>0,9</b>
<b>Max.</b>		<b>92,4</b>	<b>6,6</b>
<b>Min.</b>		<b>66,2</b>	<b>3,0</b>

**Tab. A-6: Statistische Parameter der berechneten Kalibrationsgleichungen**

Nr.	Gerät	Set	WL	Methode	Datenvorbeh.	Feuchted.	SEC	R <sup>2</sup>	SECV	1-VR	SEP	SEP(C)	Fakt.
1	NIRSystems	1	1100-2500,4	PLS	ohne	ohne	1,19	0,98	1,23	0,97	1,58	1,55	12
2	NIRSystems	1	1100-2500,4	PLS	1. Ableitung	ohne	0,78	0,99	0,88	0,99	1,02	0,98	12
3	NIRSystems	1	1100-2500,4	PLS	1. Abl. + MSC	ohne	0,55	1,00	0,67	0,99	0,94	0,77	13
4	NIRSystems	1	1100-2500,4	PLS	2. Abl.	ohne	0,66	0,99	0,81	0,99	0,98	0,96	13
5	NIRSystems	1	1100-2500,4	PLS	2. Abl./SNV detrend	ohne	0,51	1,00	0,63	0,99	0,70	0,61	11
6	NIRSystems	1	1100-2500,4	MPLS	ohne	ohne	1,01	0,98	1,17	0,98	1,37	1,34	15
7	NIRSystems	1	1100-2500,4	MPLS	1. Ableitung	ohne	0,88	0,99	1,00	0,98	1,16	0,92	13
8	NIRSystems	1	1100-2500,4	MPLS	1. Abl. + MSC	ohne	0,57	0,99	0,67	0,99	0,90	0,78	13
9	NIRSystems	1	1100-2500,4	MPLS	2. Abl.	ohne	0,67	0,99	0,83	0,99	0,77	0,76	12
10	NIRSystems	1	1100-2500,4	MPLS	2. Abl./SNV detrend	ohne	0,59	0,99	0,67	0,99	0,58	0,57	10
11	NIRSystems	2	1100-2500,4	PLS	ohne	ohne	1,87	0,93	1,83	0,93	1,87	1,85	15
12	NIRSystems	2	1100-2500,4	PLS	1. Ableitung	ohne	0,94	0,98	1,09	0,98	0,81	0,81	12
13	NIRSystems	2	1100-2500,4	PLS	1. Abl. + MSC	ohne	0,93	0,98	0,99	0,98	0,66	0,67	11
14	NIRSystems	2	1100-2500,4	PLS	2. Abl.	ohne	0,90	0,98	0,97	0,98	0,86	0,83	11
15	NIRSystems	2	1100-2500,4	PLS	2. Abl./SNV detrend	ohne	0,64	0,99	0,68	0,99	0,67	0,65	12
16	NIRSystems	2	1100-2500,4	MPLS	ohne	ohne	2,01	0,92	2,00	0,92	1,90	1,88	13
17	NIRSystems	2	1100-2500,4	MPLS	1. Ableitung	ohne	1,01	0,98	1,13	0,97	1,01	1,01	13
18	NIRSystems	2	1100-2500,4	MPLS	1. Abl. + MSC	ohne	0,87	0,98	0,99	0,98	0,74	0,72	11
19	NIRSystems	2	1100-2500,4	MPLS	2. Abl.	ohne	0,51	1,00	0,77	0,99	1,06	1,01	15
20	NIRSystems	2	1100-2500,4	MPLS	2. Abl./SNV detrend	ohne	0,40	1,00	0,62	0,99	0,83	0,80	15
21	NIRSystems	1+2	1100-2500,4	PLS	ohne	ohne	1,63	0,95	1,57	0,95	1,50	1,51	13
22	NIRSystems	1+2	1100-2500,4	PLS	1. Ableitung	ohne	0,85	0,99	0,93	0,98	0,88	0,89	14
23	NIRSystems	1+2	1100-2500,4	PLS	1. Abl. + MSC	ohne	0,60	0,99	0,67	0,99	0,75	0,75	15
24	NIRSystems	1+2	1100-2500,4	PLS	2. Abl.	ohne	0,78	0,99	0,87	0,99	0,85	0,85	15
25	NIRSystems	1+2	1100-2500,4	PLS	2. Abl./SNV detrend	ohne	0,54	0,99	0,60	0,99	0,64	0,63	13
26	NIRSystems	1+2	1100-2500,4	MPLS	ohne	ohne	1,30	0,97	1,40	0,96	1,37	1,37	15
27	NIRSystems	1+2	1100-2500,4	MPLS	1. Ableitung	ohne	0,87	0,99	0,98	0,98	0,99	0,98	15
28	NIRSystems	1+2	1100-2500,4	MPLS	1. Abl. + MSC	ohne	0,69	0,99	0,77	0,99	0,79	0,79	13
29	NIRSystems	1+2	1100-2500,4	MPLS	2. Abl.	ohne	0,83	0,99	0,93	0,98	0,87	0,88	11
30	NIRSystems	1+2	1100-2500,4	MPLS	2. Abl./SNV detrend	ohne	0,49	1,00	0,58	0,99	0,65	0,65	14

### Fortsetzung Tab. A-6

Nr.	Gerät	Set	WL	Methode	Datenvorb. beh.	Feuchted.	SEC	R <sup>2</sup>	SECV	1-VR	SEP	SEP(C)	Fakt.
31	NIRSystems	1	1100-2500,4	PLS	ohne	mit	1,13	0,98	1,17	0,98	1,62	1,61	15
32	NIRSystems	1	1100-2500,4	PLS	1. Ableitung	mit	0,88	0,99	0,90	0,99	1,08	1,04	12
33	NIRSystems	1	1100-2500,4	PLS	1. Abl. + MSC	mit	0,65	0,99	0,70	0,99	0,80	0,76	11
34	NIRSystems	1	1100-2500,4	PLS	2. Abl.	mit	0,98	0,98	1,08	0,98	0,95	0,89	15
35	NIRSystems	1	1100-2500,4	PLS	2. Abl./SNV detrend	mit	0,50	1,00	0,60	0,99	0,76	0,68	12
36	NIRSystems	1	1100-2500,4	MPLS	ohne	mit	1,16	0,98	1,32	0,97	1,49	1,47	14
37	NIRSystems	1	1100-2500,4	MPLS	1. Ableitung	mit	0,76	0,99	0,89	0,99	1,21	1,08	15
38	NIRSystems	1	1100-2500,4	MPLS	1. Abl. + MSC	mit	0,55	1,00	0,61	0,99	1,06	0,92	15
39	NIRSystems	1	1100-2500,4	MPLS	2. Abl.	mit	0,60	0,99	0,79	0,99	0,87	0,86	15
40	NIRSystems	1	1100-2500,4	MPLS	2. Abl./SNV detrend	mit	0,38	1,00	0,51	1,00	0,61	0,61	15
41	NIRSystems	1	850-1100,4	PLS	ohne	ohne	4,99	0,56	5,69	0,42	4,21	3,98	9
42	NIRSystems	1	850-1100,4	PLS	1. Ableitung	ohne	3,98	0,72	4,58	0,62	4,21	4,07	9
43	NIRSystems	1	850-1100,4	PLS	1. Abl. + MSC	ohne	3,94	0,72	4,38	0,66	3,53	3,41	9
44	NIRSystems	1	850-1100,4	PLS	2. Abl.	ohne	4,31	0,67	4,72	0,60	4,57	4,25	8
45	NIRSystems	1	850-1100,4	PLS	2. Abl./SNV detrend	ohne	4,39	0,66	4,77	0,59	4,30	4,18	7
46	NIRSystems	1	850-1100,4	MPLS	ohne	ohne	5,17	0,52	5,69	0,42	4,47	4,41	8
47	NIRSystems	1	850-1100,4	MPLS	1. Ableitung	ohne	4,19	0,69	4,88	0,57	4,20	3,80	7
48	NIRSystems	1	850-1100,4	MPLS	1. Abl. + MSC	ohne	3,89	0,73	4,42	0,65	4,01	3,95	9
49	NIRSystems	1	850-1100,4	MPLS	2. Abl.	ohne	4,34	0,67	4,94	0,56	4,79	4,66	8
50	NIRSystems	1	850-1100,4	MPLS	2. Abl./SNV detrend	ohne	4,18	0,69	4,65	0,61	4,33	4,19	8

### Fortsetzung Tab. A-6

Nr.	Gerät	Set	WL	Methode	Datenvorbeh.	Feuchted.	SEC	R <sup>2</sup>	SECV	1-VR	SEP	SEP(C)	Fakt.
51	InfraAlyzer	1	1100-2500,4	PLS	ohne	ohne	1,11	0,98	1,70	0,95	1,48	1,48	15
52	InfraAlyzer	1	1100-2500,4	PLS	1. Ableitung	ohne	1,21	0,97	1,57	0,96	1,63	1,62	10
53	InfraAlyzer	1	1100-2500,4	PLS	1. Abl. + MSC	ohne	1,08	0,98	1,43	0,96	1,37	1,38	10
54	InfraAlyzer	1	1100-2500,4	PLS	2. Abl.	ohne	1,47	0,96	1,76	0,94	1,84	1,85	8
55	InfraAlyzer	1	1100-2500,4	PLS	2. Abl./SNV detrend	ohne	1,33	0,97	1,67	0,95	1,54	1,55	7
56	InfraAlyzer	1	1100-2500,4	MPLS	ohne	ohne	1,07	0,98	1,45	0,96	1,44	1,44	15
57	InfraAlyzer	1	1100-2500,4	MPLS	1. Ableitung	ohne	0,92	0,99	1,27	0,97	1,47	1,36	11
58	InfraAlyzer	1	1100-2500,4	MPLS	1. Abl. + MSC	ohne	0,86	0,99	1,26	0,97	1,50	1,34	11
59	InfraAlyzer	1	1100-2500,4	MPLS	2. Abl.	ohne	0,95	0,98	1,44	0,96	1,80	1,73	9
60	InfraAlyzer	1	1100-2500,4	MPLS	2. Abl./SNV detrend	ohne	1,17	0,98	1,44	0,96	1,66	1,57	7
61	InfraAlyzer	2	1100-2500,4	PLS	ohne	ohne	1,89	0,93	1,97	0,92	1,85	1,80	13
62	InfraAlyzer	2	1100-2500,4	PLS	1. Ableitung	ohne	1,08	0,98	1,50	0,95	1,21	1,22	14
63	InfraAlyzer	2	1100-2500,4	PLS	1. Abl. + MSC	ohne	1,04	0,98	1,43	0,96	1,15	1,16	14
64	InfraAlyzer	2	1100-2500,4	PLS	2. Abl.	ohne	0,96	0,98	1,55	0,95	1,48	1,50	14
65	InfraAlyzer	2	1100-2500,4	PLS	2. Abl./SNV detrend	ohne	1,04	0,98	1,47	0,96	1,51	1,52	12
66	InfraAlyzer	2	1100-2500,4	MPLS	ohne	ohne	1,79	0,93	2,02	0,92	1,81	1,80	15
67	InfraAlyzer	2	1100-2500,4	MPLS	1. Ableitung	ohne	1,13	0,97	1,56	0,95	1,45	1,43	13
68	InfraAlyzer	2	1100-2500,4	MPLS	1. Abl. + MSC	ohne	0,99	0,98	0,13	0,96	1,29	1,30	14
69	InfraAlyzer	2	1100-2500,4	MPLS	2. Abl.	ohne	0,83	0,99	1,53	0,95	1,53	1,53	13
70	InfraAlyzer	2	1100-2500,4	MPLS	2. Abl./SNV detrend	ohne	0,75	0,99	1,53	0,95	1,33	1,33	13

### Fortsetzung Tab. A-6

Nr.	Gerät	Set	WL	Methode	Datenvorbeh.	Feuchted.	SEC	R <sup>2</sup>	SECV	1-VR	SEP	SEP(C)	Fakt.
71	InfraAlyzer	1+2	1100-2500,4	PLS	ohne	ohne	1,75	0,94	1,85	0,93	1,57	1,57	13
72	InfraAlyzer	1+2	1100-2500,4	PLS	1. Ableitung	ohne	1,21	0,97	1,53	0,95	1,40	1,36	13
73	InfraAlyzer	1+2	1100-2500,4	PLS	1. Abl. + MSC	ohne	1,08	0,98	1,34	0,96	1,27	1,21	12
74	InfraAlyzer	1+2	1100-2500,4	PLS	2. Abl.	ohne	1,13	0,97	1,50	0,96	1,54	1,55	13
75	InfraAlyzer	1+2	1100-2500,4	PLS	2. Abl./SNV detrend	ohne	1,03	0,98	1,37	0,96	1,43	1,44	13
76	InfraAlyzer	1+2	1100-2500,4	MPLS	ohne	ohne	1,53	0,95	1,58	0,95	1,41	1,41	15
77	InfraAlyzer	1+2	1100-2500,4	MPLS	1. Ableitung	ohne	1,04	0,98	1,41	0,96	1,40	1,40	15
78	InfraAlyzer	1+2	1100-2500,4	MPLS	1. Abl. + MSC	ohne	1,03	0,98	1,32	0,97	1,30	1,27	13
79	InfraAlyzer	1+2	1100-2500,4	MPLS	2. Abl.	ohne	1,13	0,98	1,46	0,96	1,43	1,43	10
80	InfraAlyzer	1+2	1100-2500,4	MPLS	2. Abl./SNV detrend	ohne	0,99	0,98	1,32	0,96	1,36	1,36	10
81	InfraAlyzer	1	1100-2500,4	PLS	ohne	mit	1,51	0,96	1,71	0,95	1,57	1,50	13
82	InfraAlyzer	1	1100-2500,4	PLS	1. Ableitung	mit	1,21	0,97	1,63	0,95	1,50	1,47	11
83	InfraAlyzer	1	1100-2500,4	PLS	1. Abl. + MSC	mit	1,14	0,98	1,49	0,96	1,15	1,15	10
84	InfraAlyzer	1	1100-2500,4	PLS	2. Abl.	mit	1,46	0,96	1,76	0,94	1,74	1,75	9
85	InfraAlyzer	1	1100-2500,4	PLS	2. Abl./SNV detrend	mit	1,25	0,97	1,62	0,95	1,60	1,60	9
86	InfraAlyzer	1	1100-2500,4	MPLS	ohne	mit	1,21	0,97	1,53	0,96	1,34	1,34	15
87	InfraAlyzer	1	1100-2500,4	MPLS	1. Ableitung	mit	1,09	0,98	1,48	0,96	1,76	1,69	11
88	InfraAlyzer	1	1100-2500,4	MPLS	1. Abl. + MSC	mit	0,94	0,98	1,34	0,97	1,36	1,23	11
89	InfraAlyzer	1	1100-2500,4	MPLS	2. Abl.	mit	1,39	0,95	1,69	0,97	1,73	1,74	9
90	InfraAlyzer	1	1100-2500,4	MPLS	2. Abl./SNV detrend	mit	1,22	0,97	1,51	0,96	1,60	1,57	7



### Fortsetzung Tab. A-6

Nr.	Gerät	Set	WL	Methode	Datenvorbeh.	Feuchted.	SEC	R <sup>2</sup>	SECV	1-VR	SEP	SEP(C)	Fakt.
91	InfraAlyzer	1 GK	1100-2500,4	PLS	ohne	ohne	5,75	0,43	6,33	0,30	4,35	4,39	8
92	InfraAlyzer	1 GK	1100-2500,4	PLS	1. Ableitung	ohne	4,39	0,67	5,15	0,54	4,57	4,37	10
93	InfraAlyzer	1 GK	1100-2500,4	PLS	1. Abl. + MSC	ohne	4,52	0,65	5,37	0,50	4,48	4,35	9
94	InfraAlyzer	1 GK	1100-2500,4	PLS	2. Abl.	ohne	5,30	0,51	5,72	0,43	4,42	4,41	5
95	InfraAlyzer	1 GK	1100-2500,4	PLS	2. Abl./SNV detrend	ohne	5,39	0,50	6,10	0,35	4,59	4,56	4
96	InfraAlyzer	1 GK	1100-2500,4	MPLS	ohne	ohne	4,95	0,57	5,82	0,41	4,59	4,48	9
97	InfraAlyzer	1 GK	1100-2500,4	MPLS	1. Ableitung	ohne	4,62	0,63	5,28	0,51	4,09	3,86	6
98	InfraAlyzer	1 GK	1100-2500,4	MPLS	1. Abl. + MSC	ohne	4,59	0,64	5,30	0,51	4,03	3,86	6
99	InfraAlyzer	1 GK	1100-2500,4	MPLS	2. Abl.	ohne	4,94	0,58	5,48	0,48	4,37	4,33	3
100	InfraAlyzer	1 GK	1100-2500,4	MPLS	2. Abl./SNV detrend	ohne	4,56	0,64	5,70	0,43	4,58	4,38	4
101	Infratec	1	850-1100	MPLS	ohne	ohne	2,73	0,86	2,79	0,85	3,23	3,27	8
102	Infratec	1	850-1100	MPLS	Inverse MSC	ohne	2,90	0,85	3,31	0,80	3,46	3,49	6

Abkürzungen (vgl. 3.2):

SEC: Standardfehler der Kalibrierung

R<sup>2</sup>: Bestimmtheitsmaß von SEC

SECV: Standardfehler der Kreuzvalidierung

1-VR: Bestimmtheitsmaß von SECV

SEP: Standardfehler der Validierung

SEP(C): SEP korrigiert um den systematischen Fehler

Fakt.: Anzahl der PLS- bzw. MPLS-Faktoren

# Danksagung

Die Autoren möchten an dieser Stelle allen Probenbereitstellern für das zur Verfügung gestellte Sonnenblumenmaterial sowie dem Institut für Pflanzenbau und Grünland der FAL in Braunschweig zusätzlich für die Nutzung des NIRSystems 6500 danken.

Der Firma FOSS danken wir für die Bereitstellung des Infratec 1241 Grain Analyzer nebst Zubehör.

Bei Frau Dipl. Chem. Angela Fehrmann vom Ahlemer Institut der LWK Hannover sowie Herrn Prof. Dr. Eberhard Wüst vom FB Bioverfahrenstechnik der FH Hannover möchten wir uns ganz herzlich für die fachliche Unterstützung bei der Bearbeitung dieses Projektes bedanken.

Der UFOP in Berlin und der RHG Nord in Hannover sei herzlich für die finanzielle Förderung des Vorhabens gedankt.