

Universität Kassel
Fachbereich Ökologische Agrarwissenschaften

Diplomarbeit

**"Entwicklung und Validierung einer elektrochemischen Methode zur
Differenzierung von Weizenproben und elektrochemische Untersuchungen an
Möhren"**

**im Fachgebiet Ökologische Lebensmittelqualität
und Ernährungskultur**

1. Prüfer: Prof. Dr. A. Meier-Ploeger
2. Prüfer der Diplomarbeit: Prof. Dr. B. Ludwig
Betreuer: Dr. J. Kahl

vorgelegt von:
Marco Desche
Sommersemester 2004

Witzenhausen, den 14. April 2004

“Unser Wissen kann nur endlich sein,
während unser Nichtwissen
notwendigerweise unendlich sein muss.”

Karl Popper

Kurzzusammenfassung

Entwicklung und Validierung einer elektrochemischen Methode zur Differenzierung von Weizenqualitäten und elektrochemische Untersuchungen an Möhren

Eine Methode zur Differenzierung von Weizenproben (*Triticum aestivum* L.) mittels elektrochemischer Parameter wurde entwickelt und validiert. Die Methode wurde auf die wichtigsten Einfluss- und Verfahrensgrößen hin untersucht. Als eine Voraussetzung zur Validierung wurden alle Laborprozesse in normativen Dokumenten beschrieben. Dies ist zum ersten Mal überhaupt für die Methode in diesem Umfang durchgeführt worden.

Mit der Methode wurden Messungen durchgeführt, um Weizenproben aus fünf verschiedenen Anbausystemen (DOK-Versuch) am Produkt zu differenzieren. Eine Anbauvariante konnte anhand der Messungen statistisch signifikant abgetrennt werden. Das Validierungsziel, alle Varianten des DOK-Versuches statistisch signifikant mit elektrochemischen Parametern zu trennen, wurde demnach noch nicht erreicht.

Weiterhin wurde versucht, Möhren (*Daucus carota* L.), die sich hinsichtlich der gedüngten Stickstoffmenge unterschieden, elektrochemisch zu differenzieren. Mit der eingesetzten Methode konnte eine statistisch signifikante Trennung erfolgen.

Im Zusammenhang mit der Überprüfung der Messgrößen wurden ergänzende Untersuchungen zum Vergleich zweier verschiedener Platin-Messelektroden für das Redoxpotenzial an Wein durchgeführt. Die Elektroden unterschieden sich - abweichend von der elektrochemischen Theorie - hinsichtlich ihrer Messwerte sowohl absolut als auch im Zeitverlauf (Messkurven).

Stichwörter: Lebensmittelqualität; elektrochemischer Qualitätstest; Weizen; Möhre; Anbausystem; DOK-Versuch

Inhaltsverzeichnis

1	Ziele und Aufgabenstellung	1
1.1	Einleitung	1
1.2	Stand der elektrochemischen Methodik	2
1.3	Aufgabenstellung und Zielsetzung	7
2	Materialien und Methoden	8
2.1	Material	8
2.2	Methode zur elektrochemischen Differenzierung von Weizen	9
2.3	Methode zur elektrochemischen Untersuchung von Möhren	11
3	Entwicklung und Validierung der Methode für Weizen	16
3.1	Theoretische Grundlagen elektrochemischer Messungen	16
3.1.1	Potentiometrische Messungen; Bezugselektroden	16
3.1.2	pH-Wert	18
3.1.3	Redoxpotenzial	21
3.1.4	Spezifische elektrische Leitfähigkeit der Elektrolyte	29
3.1.5	P-Wert	32
3.1.6	Zusammenfassung: Systematische Beurteilung der Faktoren, die das Ergebnis beeinflussen können (Messtechnik)	35
3.2	Qualifikation des Messequipments und Erprobung eines Equipment-Standard	36
3.2.1	Gerätequalifikation	36
3.2.2	Exkurs: Einfluss der Rührgeschwindigkeit auf die Messpräzision	39
3.2.3	Validierung des Eisenstandards als Prüfmittel für das Messequipment	40
3.2.3.1	Systematische Beurteilung möglicher Einflussfaktoren	40
3.2.3.2	Robustheit: Manueller Ansatz	40
3.2.3.3	Präzision unter Wiederholbedingungen: Mehrere Ansätze und Messtage	41
3.3	Methodenentwicklung	42
3.3.1	Stand der Methode bei Projektbeginn	42

3.3.2	Dokumentation der Entwicklungsschritte	42
3.4	Validierung	46
3.4.1	Validierungsfrage	46
3.4.2	Charakterisierung der Methode	47
3.4.2.1	Kalibrierung	47
3.4.2.1.1	pH-Wert	47
3.4.2.1.2	Spezifische Leitfähigkeit	47
3.4.2.1.3	Redoxpotenzial	47
3.4.2.1.3.1	Anorganische Prüfmittel	47
3.4.2.1.3.2	Biologische Prüfmittel - Wein	48
3.4.2.1.3.3	Mitlaufender Methodenstandard	48
3.4.2.1.3.4	Zusammenfassung	48
3.4.2.2	Systematische Beurteilung von Faktoren, die Einfluss auf das Ergebnis haben könnten	49
3.4.2.2.1	Überblick	49
3.4.2.2.2	Probenmenge einer Teilprobe	50
3.4.2.2.3	Alter des Schrotes	51
3.4.2.2.4	Mahlvorgang	52
3.4.2.3	Ermittlung der Wiederholpräzision und Verfahrensstabilität	53
3.4.2.4	Methodenpräzision unter Vergleichsbedingungen	54
3.4.2.5	Ergebnisunsicherheit	55
4	Vergleichsmessungen	56
4.1	Weizenproben DOK-Versuch, Ernte 2003	56
4.1.1	Versuchsdesign	56
4.1.2	Ergebnisse	57
4.1.2.1	pH-Wert	57
4.1.2.2	Redoxpotenzial A1	58
4.1.2.3	Redoxpotenzial A2	58
4.1.2.4	Redoxpotenzial A3	59
4.1.3	Zusammenfassende Diskussion Redoxpotenzial	60
4.1.4	Spezifische Leitfähigkeit	62
4.2	Möhren aus einem Düngungsversuch der Universität Kassel	62

5	Exkurs: Vergleich von zwei unterschiedlichen Redox-Messelektroden	66
6	Zusammenfassung	75
6.1	Entwicklung und Dokumentation	75
6.2	Validierung	75
6.3	Vergleichsmessungen DOK-Weizenproben (Ernte 2003)	76
6.4	Vergleichsmessungen Möhrenproben aus Düngungsversuch der Universität Kassel	76
6.5	Vergleich von zwei Redoxmeselektroden an Wein	76
7	Literatur	79
8	Anhang	83
8.1	Beschreibung des Probenmaterials der Vergleichsversuche	83
8.2	Dokumentation: Methode zur elektrochemischen Differenzierung von Weizenqualitäten	91

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Systematische Beurteilung der Faktoren, die das Ergebnis beeinflussen können (Messtechnik)	35
Tabelle 2	Deskriptive Statistik für die Messung von drei Mischungen Eisenstandard in dreifacher Messwiederholung.	38
Tabelle 3	Deskriptive Statistik Eisenstandard nach Eliminierung der Messwiederholungen.	38
Tabelle 4	Deskriptive Statistik für N=3 Mischungen je Rührgeschwindigkeit.	39
Tabelle 5	Systematische Beurteilung der Einflussfaktoren (Eisenstandard)	40
Tabelle 6	Deskriptive Statistik. sechsmaliger Ansatz des Eisenstandards	40
Tabelle 7	Deskriptive Statistik. Wiederholpräzision Eisenstandard an zwei Messtagen	41
Tabelle 8	Systematische Beurteilung von Faktoren, die Einfluss auf das Ergebnis haben könnten	49
Tabelle 9	Deskriptive Statistik für zwei verschiedene Probeneinwaagen zur Mahlung	51
Tabelle 10	Deskriptive Statistik für die Vermessung von Weizenschrot an zwei Terminen.	52
Tabelle 11	Messpräzision unter Vergleichsbedingungen an zwei Tagen.	54
Tabelle 12	Ergebnisunsicherheit der Methode für Weizen	55
Tabelle 13	Messreihenfolge für die Weizenqualitäten des Vergleichsversuches DOK-Weizen.	56
Tabelle 14	Deskriptive Statistik pH-Wert DOK-Weizen-Vergleichsversuch.	57
Tabelle 15	Ergebnis des TAMHANE-Tests für den pH-Wert Weizen DOK-Vergleichsmessung	57
Tabelle 16	Deskriptive Statistik Redoxpotenzial A1 (NHE, mV) DOK-Weizen-Vergleichsversuch.	58
Tabelle 17	Ergebnis des TAMHANE-Tests für das Redoxpotenzial A1 (NHE, mV) Weizen DOK-Vergleichsmessung	58
Tabelle 18	Deskriptive Statistik Redoxpotenzial A2 (NHE, mV) DOK-Weizen-Vergleichsversuch.	58
Tabelle 19	Ergebnis des TUKEY-Tests für das gemessene Redoxpotenzial Weizen DOK-Vergleichsmessung	59
Tabelle 20	Deskriptive Statistik Redoxpotenzial A3 (NHE, mV) DOK-Weizen-Vergleichsversuch.	59

Tabelle 21	Ergebnis des TAMHANE-Tests für das Redoxpotenzial A3 (NHE, mV) Weizen DOK-Vergleichsmessung	60
Tabelle 22	Standardabweichungen des Redoxpotenzials A1 bis A3 je Mahlung und für beide Mahlungen zusammen	61
Tabelle 23	Deskriptive Statistik der spezifischen Leitfähigkeit ($\text{mS} \cdot \text{cm}^{-1}$) DOK-Weizen-Vergleichsversuch.	62
Tabelle 24	Deskriptive Statistik für die Vergleichsmessung an Möhren Düngungsversuch Universität Kassel.	63
Tabelle 25	Ergebnisvergleich zwischen EQC und den eigenen Messungen für die Möhren M77 und M88.	65
Tabelle 26	Deskriptive Statistik. Elektrochemische Messungen an Wein, Statistik je Flasche.	67
Tabelle 27	Lineare Regression der Parameter zur Aliquotnummer	69
Tabelle 28	Deskriptive Statistik je Aliquot für die elektrochemischen Messungen an Wein	69

Abbildungen

Abbildung 1	Fließdiagramm zur elektrochemischen Methode für Weizenproben.	10
Abbildung 2	Schaubild zur Auswertung der Messwerte elektrochemischer Messungen von Weizenproben	10
Abbildung 3	Normal-Wasserstoff-Elektrode (Bezugshalbzelle, rechts) in Verbindung mit einer Standard-Zinkelektrode	17
Abbildung 4	Konzentrationsabhängigkeit der Äquivalentleitfähigkeit von KCl, Kaliumazetat (CH_3COOK), Ammoniak (NH_3) und Essigsäure (CH_3COOH) für 18°C (WOLF 1966, S. 338)	31
Abbildung 5	Messkurven und Einzelmesspunkte der drei Aliquote eines Weizenextraktes	44
Abbildung 6	Ableitung des Aliquotmesswertes aus einer Messkurve	45
Abbildung 7	Redoxpotenzial-Einzelwerte (Kreise) für das Redoxpotenzial Au (NHE, mV).	64
Abbildung 8	Boxplots für die $N = 6$ Aliquotmesswerte pro Flaschen Wein für die beiden verwendeten Elektroden	68
Abbildung 9	Vergleich der Standardabweichungen der Aliquotmittelwerte des Redoxpotenzials für $N = 3$ vermessene Flaschen Wein bei zwei unterschiedliche Elektroden.	70
Abbildung 10	Lineare Regression des Redoxpotenzials von zwei Elektroden für $n=18$ Messungen an Wein	71
Abbildung 11	Messkurven des Redoxpotenzials zur Zeit von zwei Messelektroden.	72
Abbildung 12	Kurven für die Einzelmesswerte des Redoxpotenzials je Flasche und Elektrode	73

Formeln und Gleichungen

Gleichung 1	Zusammenhang zwischen pH-Wert und elektromotorischer Kraft der Messkette	20
Gleichung 2	Umrechnung des gemessenen Redoxpotenzials auf die NHE	23
Gleichung 3	NERNST-Gleichung	24
Gleichung 4	NERNST-Gleichung für die Standard-Wasserstoffelektrode	24
Gleichung 5	Modifizierte NERNST-Gleichung der Standardwasserstoffelektrode	25
Gleichung 6	pH-korrigiertes Redoxpotenzial	25
Gleichung 7	Spezifischer elektrischer Widerstand	29
Gleichung 8	Spezifische Leitfähigkeit	29
Gleichung 9	Zellkonstante	30
Gleichung 10	Anwendung des Ohmschen Gesetzes zur Herleitung des P-Wertes	32
Gleichung 11	Herleitung der Formel für den P-Wert nach WOLF und REY, 1997	33

Verzeichnis Text angewandter Zeichen, Abkürzungen und Einheiten sowie ausgewählter Fachbegriffe

a) Zeichen

\equiv	Äquivalenzzeichen. In der Bedeutung von [linke Seite] ist äquivalent [rechte Seite]
Δ	Delta. Maß für die Differenz bzw. den Unterschied zwischen zwei Größen
ΔE	Potenzialdifferenz zweier Einzelpotenziale

b) Abkürzungen und Einheiten

a_i	Ionenaktivität. Diese ist abhängig von der Konzentration c_i des Ions und einem Korrekturfaktor. Sie führt keine Einheit.
mV	Millivolt. Einheit der elektrischen Spannung.
mS cm^{-1}	Millisiemens je Zentimeter. Einheit der spezifischen elektrischen Leitfähigkeit
NHE	Standard- oder Normal-Wasserstoffelektrode
p.a.	Reinheitsgrad von Chemikalien. Bedeutung: "pro analysi"
pH	pH-Wert. Dieser führt keine Einheit.
ROI	Region of interest. Im Zusammenhang mit dieser Arbeit ist dies ein Ausschnitt aus der Messkurve eines Messparameters zur Zeit, der die vermessene Probe hinsichtlich dieses Parameters beschreibt. Aus den Messpunkten die innerhalb der ROI liegen wird ein Messwert abgeleitet, der die vermessene Probe beschreibt.

c) Fachbegriffe

Aktivitätsquotient	Quotient der Aktivitäten der oxidierten und reduzierten Form eines Redoxpaares
Gerätetoleranz	Streuung, die in technischen Eigenschaften des Messgerätes begründet ist
verifizierte Messtoleranz	geringstmögliche Streuung der Messwerte bei Verwendung der zur Verifizierung eingesetzten Messanordnung. Die Verifizierung erfolgt durch die Qualifizierung des Messequipments mit einer stabilen Lösung. Der Nachweis wurde erbracht, dass diese der

	Gerätetoleranz entspricht (Verifizierung).
Methodenpräzision	Präzision bei der Anwendung einer Methode unter vergleichbaren Bedingungen (1 Labor, 1 Prüfer, 1 Gerät)
Redoxpotenzial (NHE, mV)	auf die Standard-Wasserstoffelektrode bezogenes gemessenes Redoxpotenzial. Einheit: mV
Redoxpaar	Stoffe, die durch Elektronenaustausch ineinander übergehen können
Redoxsystem	wässrige Lösung, in der korrespondierende oxidierte und die reduzierte Formen von Redoxpaaren aufeinander einwirken
spez. Leitfähigkeit	spezifische elektrische Leitfähigkeit von Elektrolyten. Einheit: $\text{mS} \cdot \text{cm}^{-1}$
Verfahrensstabilität	Nachweis, das die Methode innerhalb einer definierten Verfahrensdauer vergleichbare Ergebnisse liefert
Vergleichspräzision	Präzision bei der Anwendung einer Methode in mehreren Laboren oder / und mit mehreren Geräten oder / und mit mehreren Prüfern

1 Ziele und Aufgabenstellung

1.1 Einleitung

In der etablierten Auffassung, welche Parameter die Lebensmittelqualität bestimmen, stehen chemisch-analytisch messbare Einzelstoffe an oberster Stelle. Der Grundgedanke alternativer Konzepte geht von anderen Prämissen aus: trotz ähnlicher stofflicher Zusammensetzung werden so genannte strukturelle Unterschiede erwartet. Methoden, die solche strukturellen Unterschiede differenzieren sollen, müssen mit wenig zerstörtem Probenmaterial arbeiten (RAHMANN et al. 2003).

Während bei herkömmlichen chemisch-analytischen Methoden der Einfluss der Matrix, in der sich ein zu bestimmender Stoff befindet, methodisch zu kompensieren ist, zielen die ganzheitlichen Methoden darauf ab, die Matrix als Ganzes zu erfassen und zu vergleichen. "Die ganzheitliche Untersuchung geht dabei vom Gesamtzusammenhang aus und versucht, ihm eine neue Ausdrucksweise zu schaffen" (RAHMANN et al. 2003).

Dazwischen gibt es eine Reihe von Ansätzen, die sowohl chemisch-analytische, wie auch ganzheitliche Ansätze enthalten. Ein Beispiel hierfür ist die elektrochemische Methode, die chemisch-physikalische Summenparameter von strukturell wenig modifizierten Lebensmittelproben erfasst.

Das Qualitätsverständnis ganzheitlicher Methoden geht weg vom mechanistisch-technischen Ansatz, der Leben quantifizieren will und sich damit immer weiter vom Ganzen entfernt. Dabei werden komplementäre, also ergänzende Methoden genutzt, um neue Informationen über die Qualität von Lebensmitteln zu erhalten. Diese Methoden sind zu validieren und in ein umfassendes Konzept zu integrieren (RAHMANN et al. 2003). Die Validierung ist ein Verfahren mit dem die Frage beantwortet wird, "...ob ein Prüfverfahren, eine analytische Methode oder eine Meß-/Prüfeinrichtung für die Erfüllung einer ganz bestimmten Aufgabe geeignet ist." (KROMIDAS 2000, 1). Die ganzheitliche Qualitätsforschung sieht sich als Erweiterung der geläufigen Denkrichtung. Sie stellt bisherige Ergebnisse nicht in Frage, sondern sucht vielmehr nach qualitativ-ganzheitlichen Zusammenhängen, die das System Mensch-Nahrungsmittel zu beschreiben vermögen (VOGTMANN 1988).

Die Inspiration ganzheitlicher Forschung geht von den philosophischen und theoretischen Ansätzen BIRCHER-BENNERS, STEINERS und - besonders für die elektrochemische Methode hervorzuheben - KOLLATHS aus. Im Gegensatz zur heute immer noch gängigen Lehrmeinung, dem Konsumenten Nahrungsmittel nach den darin enthaltenen Wirkstoffen zu empfehlen, suchte

KOLLATH nach Lebensmitteln, die auf besondere Weise das Leben erhalten und unterstützen sollten (KOLLATH 1977). Ihm gebührt daher der Verdienst, deduktives Denken und damit wieder die Ganzheit in die Ernährungswissenschaft eingeführt zu haben (RAHMANN et al. 2003).

Ökologischer Landbau unterscheidet sich von dem konventionellen vor allem durch die andere Struktur und Sichtweise der Produktionsprozesse. Namentlich der biologisch-dynamische Landbau verfolgt den Gedanken des Hoforganismus und hat damit ein System- und Kreislaufdenken für den landwirtschaftlichen Betrieb geprägt. Ein in dieser Philosophie geführter Betrieb ist durch weitgehend geschlossene Kreisläufe gekennzeichnet (KÖPKE 1994). Diese besondere Prozessqualität zeigt sich in nachweislich fruchtbareren Böden¹ (MÄDER et al. 2002). Mit den ganzheitlichen Methoden soll versucht werden, den sich in strukturellen und ggf. noch unbekannt anderen Aspekten manifestierten Unterschied ökologischer und konventioneller Produktionsprozesse auch am Produkt messbar zu machen.

Die elektrochemische Methode, die im folgenden dargestellt werden soll, nutzt klassische chemisch-physikalische Messparameter. Als Probenmaterial wird jedoch - anlehnd an die Philosophie ganzheitlicher Methoden - möglichst unverändertes Probenmaterial verwendet. Aus dem Verhältnis der Messwerte verschiedener Proben zueinander sollen empirische Gesetzmäßigkeiten erkannt werden und Zusammenhänge zwischen Produktionsverfahren bzw. der Produktqualität und den gemessenen Parametern gezogen werden.

1.2 Stand der elektrochemischen Methodik

Der französische Hydrologe Louis Claude VINCENT entwickelte eine auf den drei Parametern pH-Wert, Redoxpotenzial und elektrischer Widerstand ("bioelektronische Parameter") beruhende Methode zur Beurteilung der Trinkwasserqualität. Nach seiner Auffassung beeinflussen die bioelektronischen Parameter des Trinkwassers die bioelektronischen Parameter der Körperflüssigkeiten (Blut und Urin). Sie sollen somit Einfluss auf die Gesundheit des Organismus haben. Zum Beweis führte er Statistiken auf, in denen er die bioelektronischen Kennwerte des Trinkwassers einer Region bestimmten dort gehäuft auftretenden Krankheitsbildern gegenüberstellte. Hieraus leitete er einen Ursache-Wirkungs-Mechanismus ab. Später wandte VINCENT die Parameter auch für die Qualitätsbeurteilung von Nahrungsmitteln und in der medizinischen Diagnostik an. Er führte auch den P-Wert als einen die drei Messgrößen integrierenden Parameter ein (ELMAU 1985).

¹ Im Originaltext: "Enhanced soil fertility and higher biodiversity found in organic plots..."

Der Ernährungsforscher Werner KOLLATH sah eine besondere Bedeutung der Redoxsysteme für die Qualität der Nahrung. Als Redoxsysteme bezeichnete er anorganische und organische Systeme, die durch Änderung ihrer Wertigkeiten Energie übertragen. Er wies ferner darauf hin, dass bestimmte Enzyme¹ mit der Wasserstoffionen-Konzentration ihre Funktion ändern. Die Redoxsysteme bewirken im Stoffwechsel die Regenerierung von physiologisch wirksamen Stoffen, die selbst Redoxsysteme sind. Eine weitere wichtige Funktion der Redoxsysteme im Stoffwechsel sei das katalysieren der "kalten Verbrennung" der Nahrung. Auf diese Weise werde die mit der Nahrung aufgenommenen Energie allmählich genutzt. Die Umwandlung der Nahrungsenergie in Wärme werde dagegen reglementiert. Als besonders wichtig erkannte KOLLATH, dass das System der Redoxsysteme schwer gestört werden kann, wenn nur ein Kompartiment fehlt. Das Fehlen eines solchen Systems, das vom Körper selbst nicht hergestellt werden kann, bezeichnete er als "Redox-Kurzschluss". In Folge träten Krankheiten auf (KOLLATH 1977, S. 98ff). Aus diesem Grund ist eine entsprechende Komposition der Redoxsysteme in der Nahrung für eine "effektive" Nutzung der über die Nahrung zugeführten Energie im Stoffwechsel entscheidend.

Die Zusammensetzung der Redoxsysteme in der Nahrung hat Einfluss auf das zu messende Redoxpotenzial. Eine Spezifität für einzelne Redoxsysteme ist jedoch hierbei nur bedingt gegeben. Eine geringe Verschiebung im Potenzial könnte aber durchaus durch das Fehlen eines wichtigen Systems verursacht sein. Geringe Potenzialdifferenzen zwischen zwei Lebensmitteln könnten daher große physiologische Auswirkungen haben. Ein empirischer Nachweis für diese Annahme ist jedoch bisher nicht geführt worden.

Der Forschungsansatz VINCENTS, die Parameter pH, Redoxpotenzial und spezifische Leitfähigkeit zur Beurteilung der Lebensmittelqualität zu benutzen, wurde durch HOFFMANN in den 80'er Jahren aufgegriffen (HOFFMANN 1988). Diesem Ansatz folgend wurden in den Folgejahren verschiedene Forschungsprojekte von unterschiedlichen Wissenschaftlern durchgeführt.

Viele dieser Arbeiten benutzen den P-Wert als Unterscheidungsparameter. Dieser ist nach Ansicht des Autors nur bedingt aussagekräftig, was in einem späteren Kapitel nachgewiesen wird. Der P-Wert wird als Maß für die Entropie des vermessenen Milieus interpretiert, ohne das diese Behauptung bisher stichhaltig bewiesen worden wäre.

¹ Im Original: "Fermente"

Oft wird in den in der Folge zu diskutierenden Arbeiten der Begriff "Qualität" benutzt. Eine allgemein gültige Definition, was "gute" bzw. "schlechte" Qualität im Bezug auf die untersuchten Lebensmittel bedeutet, existiert jedoch nicht. Dagegen zieht sich durch die Publikationen eine diffuse Vorstellung, die sich wohl zum Teil an KOLLATH anlehnt. Danach sei "gute Qualität" besser geeignet, menschliche Lebensprozesse zu unterstützen (KOLLATH 1978) als "schlechte Qualität". Ermangels einer besseren Definition soll diese Qualitätsdefinition im Rahmen der folgenden Diskussion von Quellen zur elektrochemischen Unterscheidung von Lebensmittelproben als gegeben angenommen werden. Für die vorliegende eigene Arbeit des Autors soll jedoch von einem Qualitätsbegriff Abstand genommen werden. Ein solcher könnte erst aufgrund der empirischen Verknüpfung von Daten unterschiedlichster Methoden mit den Daten der elektrochemischen Methode erarbeitet werden.

"Gute Qualitäten" sollen nach der P-Wert-Theorie durch einen niedrigen P-Wert und damit eine niedrige Entropie gekennzeichnet sein. Einzelne Untersuchungen zeigen aber, dass ein solcher Zusammenhang nicht schlüssig ist. Exemplarisch soll eine Studie zum Lagerverhalten von Möhren dargestellt werden. Die untersuchten Möhren einer Charge wurden unter verschiedenen Bedingungen gelagert. Nach einer definierten Lagerzeit wurden sie elektrochemisch untersucht. Dabei hatte die Variante, die "keine Eigenschaft eines verkehrs- und verzehrsfähigen Lebensmittels" (HEILMANN 2001) aufwies, den niedrigsten P-Wert. Diese Variante war in einem dichtschießenden Kunststoffbeutel gelagert worden, der die Atmung unterband und damit Zersetzungsprozesse begünstigte (HEILMANN 2001). Es scheint so zu sein, dass gerade Zersetzungsprozesse - also die Zunahme der Entropie - zu niedrigen P-Werten führen. Der postulierte Zusammenhang zwischen Entropie und P-Wert ist angesichts der zitierten Untersuchung *ad absurdum* geführt.

Laut Anwendern der elektrochemischen Methode eignen sich die pH-Werte selten zur Differenzierung von pflanzlichen Produkten (HOFFMANN 1992). Die pH-Werte variieren - offenbar aus pflanzenphysiologischen Gründen - innerhalb einzelner botanischer Arten nur minimal. Dies ist von Vorteil, da der Vergleich der pH-abhängigen Parameter Redoxpotenzial und spezifische Leitfähigkeit unter den Proben erleichtert wird. Auch sollte sich ein enger Bereich für den normalen pH-Wert eines pflanzlichen Produktes angeben lassen.

Entgegen dieser Erfahrung ist bekannt, dass der pH-Wert ein bedeutender Parameter zur Beschreibung der Prozessqualität ist (vgl. z.B. MEIER-PLOEGER et al. 2003 für Käse und Brot). Daher könnten sich unterschiedliche pH-Werte von Proben auf Ereignisse im Produktions- bzw.

Weiterverarbeitungsprozess (z.B. Lagerung) zurückführen lassen.

Wie sich verschiedene pflanzliche Produkte mit elektrochemischen Parametern unterscheiden lassen, soll in der Folge anhand einiger Beispiele dargestellt werden. Die Unterscheidung von Äpfeln einer Sorte, die auf verschiedenen Unterlagen¹ gezogen wurden, gelang anhand der Leitfähigkeit, teilweise dem Redoxpotenzial und - entgegen dem vorhergehenden Abschnitt - auch mit dem pH-Wert des Apfel-Pressaftes. Der pH-Wert und das Redoxpotenzial wiesen dabei nur geringe Schwankungen auf. Der Versuch wurde mit Äpfeln nur eines Anbaujahres durchgeführt (KEPPEL 1997). Eine weitere Untersuchung zeigte den Einfluss verschiedener Bodenbehandlungen und Düngungsvarianten auf die elektrochemischen Parameter des Apfelpressaftes. Auch hier konnten die Proben teilweise signifikant unterschieden werden (KEPPEL 1997).

Für Wein wurde die Unterscheidung von Traubensäften einer Rebsorte versucht, die auf verschiedene Unterlagen¹ veredelt worden war. Anhand der pH-Werte war keine Unterscheidung möglich. Mit den beiden anderen Parametern konnte jedoch eine teilweise signifikante Unterscheidung getroffen werden (KEPPEL 1997). Auch eine Unterscheidung von Weinen, die aus zwei unterschiedlichen Rebsorten gekeltert wurden, war mit elektrochemischen Parametern möglich. Hingegen war die Differenzierung von mit unterschiedlichen Hefen vergorenen Traubensäften einer Sorte elektrochemisch nicht möglich (KEPPEL 1997).

Die Größe des Ernteproduktes bei Gemüse hat Einfluss auf elektrochemische Parameter. Dies zeigte sich in einem Versuch, in dem Kohlrabi und Sellerie von verschiedenen Versuchspartnern („unbehandelt“, „naturnah“, „konventionell“) miteinander verglichen wurden. Hierbei konnte der Unterschied von kleinen und großen Früchten statistisch abgesichert werden (JEZIK 1997). Einer repräsentativen Probennahme kommt daher große Bedeutung zu. Gleichzeitig könnte die Untersuchung von solchen Proben erschwert sein, die sich bereits aufgrund der Versuchsanstellung in ihrer Größenverteilung unterscheiden (z.B. Düngungsversuche).

Bei Tomaten (*Lycopersicon esculentum* L.) konnte in einem Versuch eine Trennung der Reifegruppen „Vollreif“, „Halbreif“ und „Nachreifetomate“ mit elektrochemischen Parametern erfolgen. Zu den Einzelparametern wurden keine Aussagen getroffen. Die Pflanzen, deren Früchte für die Untersuchung benutzt wurden, wurden zur besseren Vergleichbarkeit in zwei

¹ Als „Unterlage“ im Sinne des Obstbaues wird eine Pflanze bezeichnet, auf die ein Edelreis veredelt wird.

identischen Versuchsgewächshäusern angebaut (JEZIK 1997).

Eine Studie zur Unterscheidung ökologisch und konventionell angebaute Gemüse führte KRAUTGARTNER (2002) durch. Hierbei wurden Salat (*Lactuca sativa* L.), Rotkohl (*Brassica oleracea* subsp. L.), Spinat (*Spinacea oleracea* L.) und Feldgurke (*Cucumis sativus* L.) untersucht. Die jeweiligen ökologischen Varianten zeigten gegenüber den konventionellen tendenziell (Rotkohl) bzw. signifikant niedrigere Redoxwerte (Spinat). Für Feldgurken konnte keine geeignete Methode erarbeitet werden. Ein Vergleich von frischem und gelagertem Salat zeigte für die gelagerten Salatproben höhere pH-Werte und Redoxpotenziale sowie höhere spezifische Leitfähigkeiten (O.V. 2003, KRAUTGARTNER 2002).

Die Unterscheidung verschiedener Arten von Schafgarbe (Gattung *Achillea*) gelang mit Hilfe des Redoxpotenzials. Dabei wurden die elektrochemischen Parameter der Blüten von je fünf Klonen einer Art zu verschiedenen Stadien ("Knospe", "Volle Blüte", "Nach dem Verblühen") gemessen. Die Messungen wurden im Folgejahr wiederholt und konnten reproduziert werden. Eine Korrelation des Redoxpotenzials zum Gehalt an ätherischen Ölen wurde nicht gefunden (PETRIKOVA und KOMARKOVA 2002).

Im Rahmen einer Untersuchung von Ertrag und Qualität von Kartoffeln im organischen Landbau wurde die spezifische elektrische Leitfähigkeit als Qualitätskriterium eingesetzt. Dabei zeigten sich signifikante Unterschiede der spez. Leitfähigkeit zwischen den organisch und den mineralisch gedüngten Varianten (SCHULZ 2000). Eine höhere Leitfähigkeit soll mit schlechteren Lagerungseigenschaften korrelieren (PETTERSON 1977).

Für Möhren konnte gezeigt werden, dass sich verschiedene Sorten und Standorte auf die elektrochemischen Parameter auswirken. Inwiefern sich diese Unterscheidung auch über mehrere Jahre reproduzieren lässt, wurde nicht geprüft (KAISER 1991, zitiert in HOFFMANN 1992).

Aus den zitierten Untersuchungen wird die enorme Bandbreite möglicher Einflussfaktoren auf die elektrochemischen Parameter von Pflanzenproben deutlich. Inwiefern eine Trennung solcher Proben möglich ist, die multivariaten Einflussfaktoren unterlegen haben, ist nur mit umfangreichen Versuchsreihen zu klären. Der Grundlagenarbeit an Proben, die sich nur in einem Einflussfaktor unterscheiden, kommt daher hohe Bedeutung zu. Dies soll in der vorliegenden Arbeit an zwei Proben, Weizen und Möhre, erfolgen.

1.3 Aufgabenstellung und Zielsetzung

Für die Differenzierung von Weizenproben mittels elektrochemischer Parameter existierte bisher keine dokumentierte und validierte Methode. Ziel dieser Arbeit sind Entwicklung, Dokumentation und Validierung (nach EN ISO 17025) einer solchen Methode.

Die Validierung umfasst die Beurteilung und Untersuchung von Einflussgrößen auf das Messergebnis sowie die Ermittlung von Verfahrenskennwerten (Methodenpräzision u.ä.). Bei der systematischen Beurteilung der Faktoren, die das Ergebnis beeinflussen können, werden kritische Punkte der Methode aufgesucht. Anschließend wird beurteilt, ob diese einen Einfluss auf das Ergebnis haben könnten. Ist ein solcher Einfluss nicht auszuschließen, muss dieser im Rahmen der Validierung quantifiziert werden.

Mit der validierten Methode sollen Weizenproben untersucht werden, die aus dem DOK-Versuch stammen. Die Weizenproben unterscheiden sich hinsichtlich ihres Anbauverfahrens, speziell hinsichtlich der Art und Menge des eingesetzten Düngers (näheres hierzu in MÄDER et al. 2002).

Ergänzend hierzu sollen zwei Möhrenproben mit elektrochemischen Parametern aus einem Düngungsversuch der Universität Kassel mit einer Methode untersucht werden, die sich an eine vorhandene Prozedur anlehnt.

2 Materialien und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Qualifikation des Messequipments und Erprobung eines Equipment-Standards

Für die Experimente im Rahmen der Gerätequalifikation wurden eingesetzt:

- a) Eisen(II)-chlorid-Tetrahydrat ($\text{FeCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$), Reinheit “pro analysi”
Hersteller: Merck KGaA D-64271 Darmstadt
- b) Eisen(III)-chlorid-Hexahydrat ($\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$), Reinheit “pro analysi”
Hersteller: Merck KGaA D-64271 Darmstadt

2.1.2 Entwicklung und Validierung der elektrochemischen Methode für Weizen

Für die Vorversuche wurde handelsüblicher Körner-Weizen der Firma ALNATURA (in Folge: Alnatura-Weizen) verwendet, der im örtlichen Supermarkt (tegut...) erworben wurde. Es wurden 5 kg mit demselben Mindesthaltbarkeitsdatum erworben. Es wurde davon ausgegangen, dass diese eine einheitliche und homogene Charge repräsentieren. Der Weizen wurde zu einer Bulk-Probe vereinigt und homogenisiert. Die Lagerung erfolgte in der Verkaufsverpackung bei Labortemperatur in einem Schrank.

Außerdem wurde ein angeliefertes, fertig gemahlene ökologisches Weizen-Schrot (in Folge: L-Weizenschrot) von der LANDSHUTER KUNSTMÜHLE verwendet. Geliefert wurden zwei Säcke á 25 kg. Aus einem dieser Säcke wurde ein Aliquot von etwa 4 kg entnommen, homogenisiert und in einem ständig verschlossenen und dunkel stehenden Plastesack aus Polyethylen in einem Laborschrank aufbewahrt.

2.1.3 Vergleichsmessungen

Für den Test der Methode zur Eignung der Differenzierung von Qualitäten standen kodierte Bulk-Proben der Feldwiederholungen der einzelnen Varianten des Weizen-DOK-Versuches aus der Ernte 2003 zur Verfügung (vgl. Anhang 8.1). Verwendet wurde dasselbe Probenmaterial wie für die Kupferchloridkristallisation.

Zusätzlich wurden die ebenfalls im Anhang 8.1 beschriebenen Proben “Möhren für die Untersuchung über die Anbauverfahren (Universität Kassel)” vermessen.

2.1.4 Vergleich von zweier Redoxelektroden

Hier wurde Wein der Rebsorte “Grüner Veltiner” benutzt. Dieser Wein wurde von der Firma EQC zur Verfügung gestellt, die ihn selbst als Messstandard benutzt. Es wurden drei Flaschen

vermessen, die angabegemäß aus derselben Charge stammten.

2.2 Methode zur elektrochemischen Differenzierung von Weizenproben

Für die Methode zur elektrochemischen Differenzierung von Weizenproben ist aufgrund der Validierung eine umfangreiche normative Dokumentation notwendig. Diese ist an Anlehnung an eine *Standard-Operatingprocedure* gestaltet und im Anhang 8.2 abgedruckt.

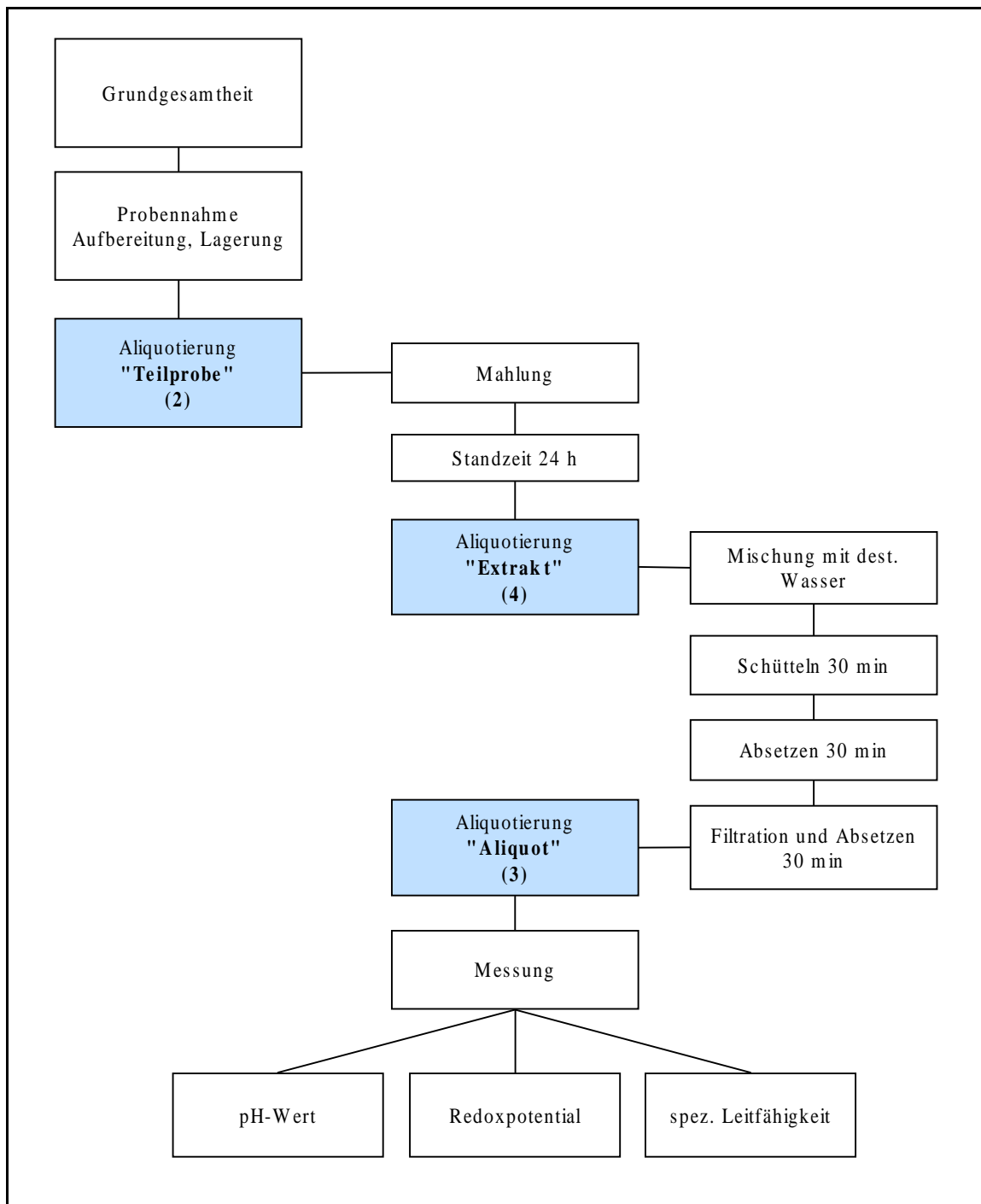


Abbildung 1: Fließdiagramm zur elektrochemischen Methode für Weizenproben.

Fettgedruckt sind die Bezeichnungen der Probe in der jeweiligen Methodenstufe und die Anzahl der Wiederholungen in jeweiligen Methodenschritt.

Zur Übersicht über die Methode soll das vorstehende Fließdiagramm dienen, anhand dessen die Methode kurz erläutert werden soll. Aus der Grundgesamtheit wird eine Probe gezogen. Dieser Schritt kann ggf. laborextern ausgeführt worden sein. Die Probe wird aufbereitet und unter spezifizierten Bedingungen gelagert. Aus der Probe werden zwei Teilproben entnommen. Diese werden gemahlen. Das Mahlgut (Schrot) bleibt für 24-48 h stehen. Aus jeder Teilprobe werden 4 Extrakte hergestellt. Jedem Extrakt werden drei Aliquote entnommen, die nacheinander

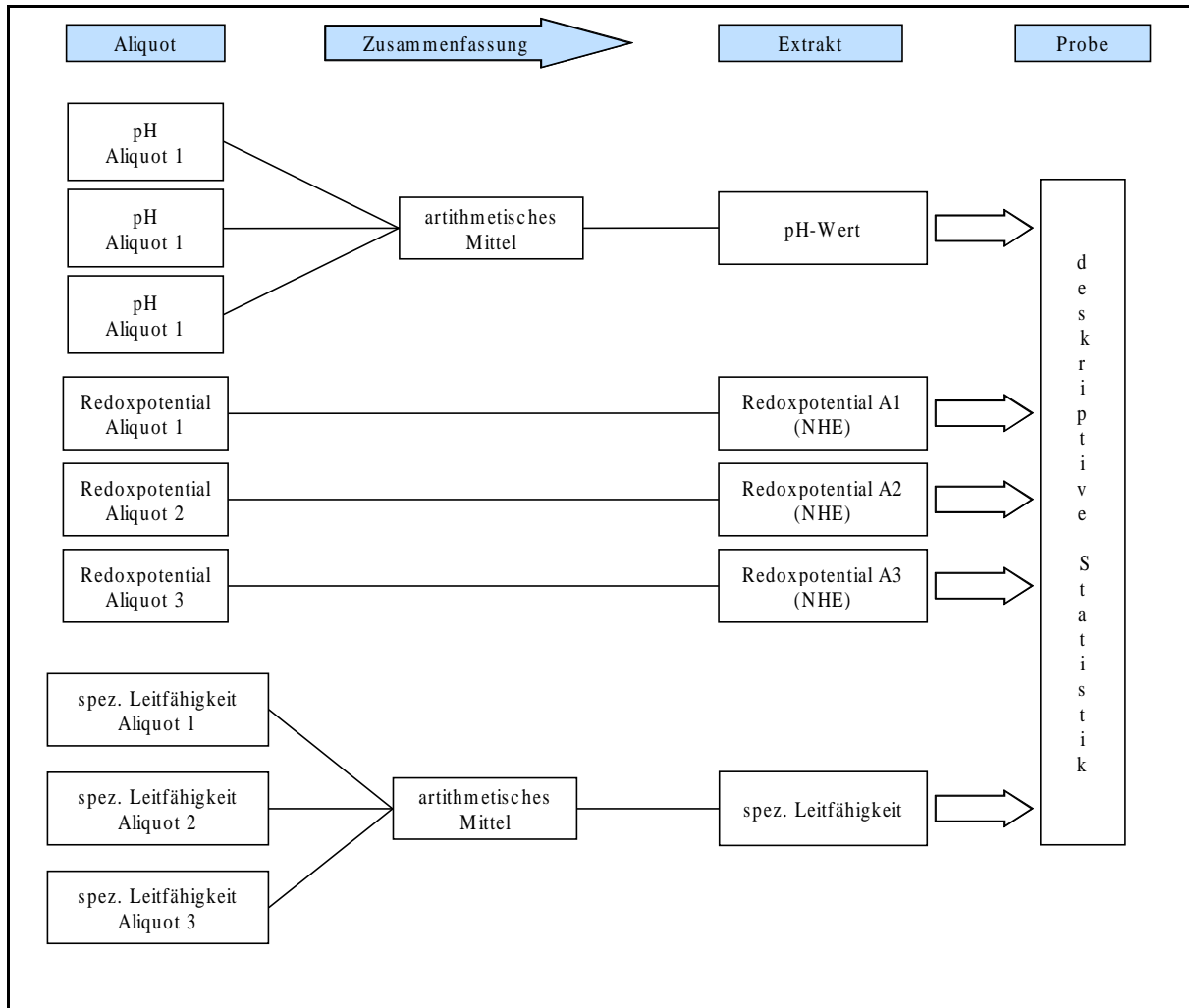


Abbildung 2: Schaubild zur Auswertung der Messwerte elektrochemischer Messungen von Weizenproben (zur Herleitung vgl. Kapitel 3.1. ff)

vermessen werden. Die Auswertung der Messwerte einer Probe erfolgt nach folgendem Schema:

Die Aliquotmesswerte werden auf Extraktebene zusammengefasst. Pro Probe werden demnach acht Extraktmesswerte von fünf verschiedenen Messparametern mit statistischen Methoden beschrieben und ausgewertet (vgl. zur Begründung auch 3.3.2). Die Unterteilung in zwei Teilproben für die Mahlung wird dabei ignoriert. Dies ist möglich, da die Mahlung nachweislich keinen Einfluss auf das Ergebnis hat (vgl. Abschnitt 3.4.2.2.4 auf Seite 52)

2.3 Methode zur elektrochemischen Untersuchung von Möhrenproben

Grundlage war die von der EQC entwickelte und von ihr validierte Methode zur elektrochemischen Messung von Möhrenqualitäten (dokumentiert in MEIER-PLOEGER et al. 2004). Diese soll hier wörtlich zitiert werden. Abweichend vom Original wurden die Unterpunkte mit Buchstaben (a, b, c ...) statt mit Gedankenstrichen gekennzeichnet.

[Beginn des wörtlichen Zitats]

Standard-Arbeitsanweisung Karotten (BLE)

1. Auswahl

- a 2 kg ohne Sortierung
- b Dokumentation des Anlieferungszustandes

2. Lagerung

- a ungewaschen, const. [sic!] Temperatur, kühl, dunkel

3. Probenvorbereitung

- a Karotten über Nacht zur Temperaturadaption im Labor lagern
- b Klassifizierung (10 mittlere Karotten)
- c waschen, nicht schälen

4. Aufbereitung

- a 10 Karotten
- b vorderes/ hinteres Viertel abschneiden
- c Karotten längs halbieren
- d Karotten abdecken (Tuch)

5. Entsaften (3-fach-Wiederholung)

- a Karottenmischprobe entsaften mit Green Star [TM - Erg. d. A.] GS 3000
- b Karottenhälfte einzeln entsaften, sonst Erwärmung des Saftes
- c Mischsaft in Becherglas auffangen (Zubehör von Green Star TM)

6. Messen (3-fache Wiederholung)

- a Saft 5 min stehen lassen
- b Magnetrührstäbchen in Becherglas (50 ml) geben
- c aus Becherglas 40 ml Saft in 50 ml-Messglas füllen

- d pH- und Redox-Elektroden sowie Leitfähigkeitssensor in Messglas einführen
- e Magnetrührer Heidoph MR 3003 control (150 U/min, T = 25 °C) starten
- f Messung starten (SEE 500)
- g Endwerte (pH, Redox, Leitfähigkeit) protokollieren

7. Auswertung

- a Mittelwertbildung
- b Graphik [sic!]
- c Statistische Auswertung

[Ende des wörtlichen Zitats]

Die zitierte Methodenbeschreibung ist nicht ausreichend detailliert. Deshalb wurden einige Punkte ergänzt. Außerdem wurden Modifikationen vorgenommen. Die Änderungen sind in der folgenden Tabelle dargestellt. Die Nummerierung bezieht sich auf die entsprechenden Unterpunkte der eben zitierten “Standard-Arbeitsanweisung Karotten (BLE)”:

Tabelle 1: Ergänzungen und Modifikationen der “Standard-Arbeitsanweisung Karotten (BLE)” der EQC

Unterpunkt der Original-anweisung		Modifikation / Ergänzung
1	a	- abweichend hierzu wurde die gesamte angelieferte Probe vermessen
2	a	- Lagerung im Kühlschrank bei 4 °C
3	b	- jede Probe wurde nach dem Waschen in vier Teilproben geteilt. Es wurde so geteilt, dass alle Teilproben gleiche Größenverteilungen aufwiesen. - die Größenverteilung erfolgt, indem Gruppen von vier Möhren mit etwa gleicher Länge und Dicke gebildet und dann auf die vier Subsamples aufgeteilt werden - Prüfung der Homogenität der Subsamples durch wiegen. Das schwerste Subsample soll maximal 15 % schwerer als das leichteste sein

Tabelle 1: Ergänzungen und Modifikationen der “Standard-Arbeitsanweisung Karotten (BLE)” der EQC

Unterpunkt der Original-anweisung		Modifikation / Ergänzung
	c	- waschen unmittelbar vor dem Saften - unter Leitungswasser - mit weicher Bürste - zum abtropfen auf Küchenpapier legen - Abtrocknen mit Küchenpapier
4	a	- siehe 3 b
	c	- keine Vermessung von Halbkarotten, sondern Bildung von Teilproben (vgl. 3 b)
	d	- entfällt
6	a	- entfällt laut schriftlicher Mitteilung (STALLER 2003)
	c	- 60 ml Saft in einem 100 ml Becherglas (hohe Form)
	g	- Protokollierung in Excel
7	b	- entfällt
	c	- Messdauer 900 s - Median der letzten 13 Logger-Messwerte eines Aliquots = Aliquotmesswert

Bedeutende Änderungen wurden insbesondere bei der Probenaliquotierung vorgenommen. Während nach der Originalprozedur 10 mittlere Karotten ausgesucht und vermessen wurden, wurde hier die gesamte Probenmenge vermessen. Nimmt man an, dass die Größenverteilung einer repräsentativ gezogenen Probe die Größenverteilung der Grundgesamtheit repräsentiert, so erscheint dieses Verfahren zweckmäßiger¹. Die Probenauswahl ist durch die Bildung von Subsamples wie beschrieben und durch die Prüfung der Homogenität (Tabelle 1, Unterpunkt 3b) standardisiert. Zudem wird eine größere Probenmenge vermessen.

Durch die Bildung von vier Subsamples kann im Gegensatz zur Methode eine echte vierfach Messwiederholung verglichen werden. Dies ist mit der Ursprungsmethode nicht möglich, da die zweite Karottenhälften mutmaßlich während der Messung der ersten Hälfte altert und somit

¹ vgl. den Einfluss der Größe des Ernteproduktes auf das Redoxpotenzial bei JEZIK 1997, bereits zitiert auf Seite 5

nicht mit der ersten Hälfte vergleichbar ist.

Beim Messequipment wurde zusätzlich zur in der Originalmethode vorgesehenen Redox-Plättchenelektrode vom Typ MC21 (Hersteller: Sensortechnik Meinsberg GmbH) eine Redoxeinstabmesskette mit Gold-Messelektrode (Hamilton Polilyte Rx120 AU) verwendet. Diese wurde nach in der in der Weizenmethode festgelegten Weise konditioniert (vgl. Anhang 8.2., Unterpunkt M 2.2.2).

Die Konditionierung der Elektrode MC 21 erfolgte wie folgt (Konditionierung nach STALLER 2002):

1. Putzen des Platinplättchens mit einer Paste aus Aluminiumoxid 90 (zur Chromatografie) auf einer Fliese mit einer mittelharten Zahnbürste
2. Abspülen mit destilliertem Wasser
3. Abtupfen mit Küchenpapier
4. Wärmeableitung an die Elektrode anlegen (Krokodilklemme) und mit einem Gasbrenner das Platinplättchen zur hellen Rotglut erhitzen (ca. 5 s)
5. Klemme entfernen und Elektrode in Redoxpuffer abschrecken
6. Mit destilliertem Wasser spülen und sofort zu Messung verwenden

Die Hamilton-Elektrode wurde wie in der Methode für Weizen beschreiben konditioniert (vgl. Anhang 8.2, Unterpunkt M 2.2.2)

3 Entwicklung und Validierung der Methode für Weizen

3.1 Theoretische Grundlagen elektrochemischer Messungen

Entwicklung und Validierung einer Methode setzt ein grundlegendes Verständnis der eingesetzten Messgrößen voraus. Die hier betrachteten elektrochemischen Parameter sind physikalisch-chemische Summenparameter, die die Aktivität und Beweglichkeit von Ladungsträgern im wässrigen Milieu beschreiben. Sie ergeben sich aus der Gesamtwirkung bestimmter Stoffe, die in einer wässrigen Matrix vorhanden sind und beschreiben das Milieu der vorliegenden Lösung. In den folgenden Abschnitten soll die physikalisch-chemische Herleitung der Parameter erörtert werden. Hieraus werden Faktoren abgeleitet und bewertet, die Einfluss auf das Messergebnis haben können.

3.1.1 Potentiometrische Messungen; Bezugselektroden

Potentiometrische Messungen, wie die Bestimmung des pH-Wertes und des Redoxpotenzials, erfolgen in galvanischen Zellen. Diese bestehen aus mindestens zwei Elektroden, die in einen Elektrolyten eintauchen. An jeder der Elektroden bildet sich ein elektrisches Potenzial (E , Einzelpotenzial) aus. Zwischen den Elektroden stellt sich eine Potenzialdifferenz (ΔE) ein. Bei elektrochemischen Messungen macht man sich zu Nutze, dass bestimmte Elektroden ihr Einzelpotenzial in Abhängigkeit von der Aktivität (a_i) einzelner Stoffe im Elektrolyten ändern. Die Aktivität a_i ist das Produkt der Konzentration c_i und dem Ionenaktivitätskoeffizienten f_i (WOLFF, 1966, 346).

Um das Einzelpotenzial einer Elektrode zu bestimmen, muss die Messung gegen eine Bezugselektrode mit dem Einzelpotenzial $E = 0$ erfolgen. Diese Bezugselektrode ist nach internationalen Vereinbarungen die Normal-Wasserstoff-Elektrode (NHE). Diese ist so aufgebaut: Eine Platinelektrode taucht in eine Lösung mit der Wasserstoffionenaktivität $a_{\text{H}^+} = 1$ (0,5 molare H_2SO_4). Die Elektrode wird von Wasserstoffgas mit dem Druck $p=1013,25$ mbar umspült. Die Potenzialdifferenz einer Messzelle aus einer NHE (Bezugselektrode) und einer anderen Halbzelle (Messhalbzelle) entspricht definitionsgemäß dem Einzelpotenzial der Messelektrode (vgl. Abbildung 1). Da die NHE schwierig zu handhaben ist, benutzt man andere Bezugselektroden mit bekanntem und konstantem Potenzial. Der Rückbezug auf die NHE kann durch einfache Subtraktion des bekannten Einzelpotenzials der Bezugselektrode erfolgen (vgl. auch 3.1.3 auf Seite 23).

Bezugs- und Messhalbzelle sind über eine sogenannte Salzbrücke verbunden. Diese wird in verschiedenen Formen ausgeführt. Häufig werden Diaphragmen verwendet. Das sind poröse

Keramikplättchen, die den Mess- und Bezugselektrolyten voneinander trennen. Diaphragmen sind elektrisch leitfähig und weisen eine Durchlässigkeit für die Ionen der Elektrolyten auf. Über sie wird der Stromkreis zwischen Mess- und Bezugselektrode geschlossen und ein definierter Stoffaustausch zwischen den Halbzellen ermöglicht.

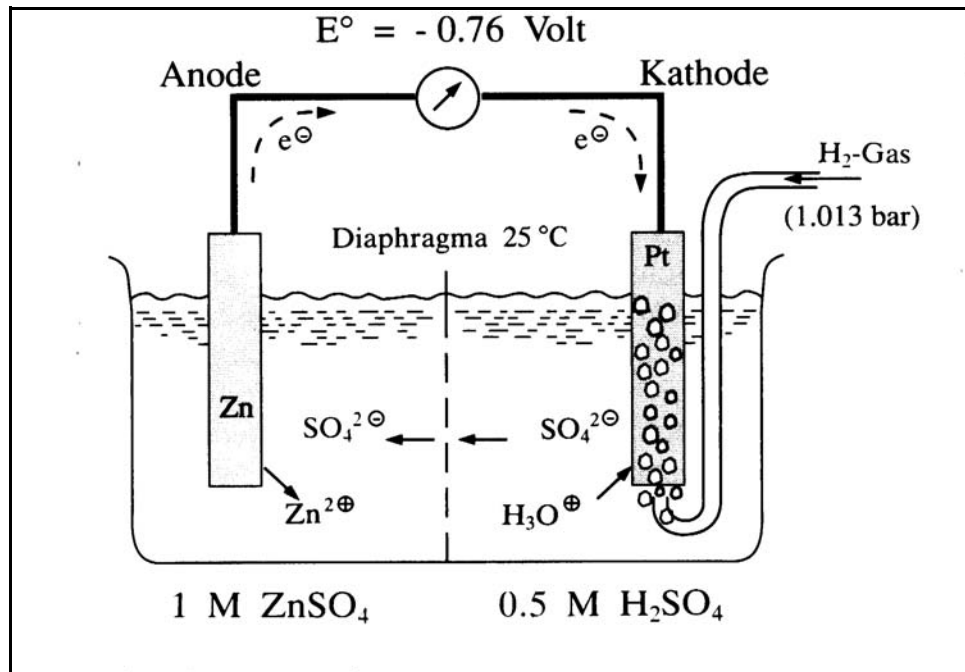


Abbildung 3: Normal-Wasserstoff-Elektrode (Bezugshalbzelle, rechts) in Verbindung mit einer Standard-Zinkelektrode (Messhalbzelle, links).

Quelle: ZEECK et al., 2000, 124

Der Einfluss der Salzbrücke auf die Potentialdifferenz wird durch ihr Diffusionspotenzial beschrieben. Dieses hängt maßgeblich von der Ausflussgeschwindigkeit des Bezugselektrolyten ab und kann erheblichen Einfluss auf die Wiederholgenauigkeit der Messungen haben. Eine nicht ausreichende Flussgeschwindigkeit des Elektrolyten kann zu Veränderungen des Bezugspotenzials von einigen Millivolt (mV) führen. Weiterhin wird ein so genannter Rühr- oder Gedächtniseffekt beschrieben, der durch die Adsorption von Ionen der Messlösung in der Salzbrücke verursacht wird. Dies beeinflusst ebenfalls das Diffusionspotenzial und kann Messfehler bis zu 100 mV verursachen. Dieser Fehler kann durch hohe Flussraten des Bezugselektrolyten minimiert werden (CAMMANN und GALSTER 1996, 48ff.).

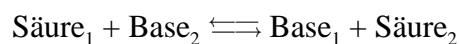
Die Auswahl der Salzbrücke in Abhängigkeit von des Matrix ist das entscheidende Kriterium für die Messpräzision. In 70 % der Fälle ist die Bezugselektrode - und hier wiederum die Salzbrücke - für Messprobleme verantwortlich (FISHER 1984). Für visköse und feststoffhaltige Medien, wie sie mit der elektrochemischen Methode vermessen werden, werden "sleeve junctions" empfohlen. Hierbei wird eine Kapillare zur Verbindung von Bezugs- und

Messelektrolyten benutzt. Gleichzeitig ist der Bezugs-Elektrolyt gelartig ausgebildet. Eine geringe Verschmutzungsanfälligkeit und eine definierte Ausflussgeschwindigkeit kennzeichnen diese Art der Salzbrücke.

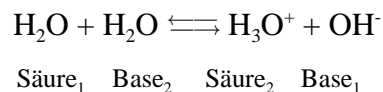
Standardmäßig sind die Bezugs- und die Messelektrode in so genannten Einstabmessketten vereinigt. Als Bezugselektrode fungiert hier meist eine Silber-Silberchlorid-Elektrode in 3 molarer KCl als wässrige Lösung oder Gel. Salzbrücken sind hier in diversen Formen erhältlich.

3.1.2 pH-Wert

Nach BRØNSTEDT und LOWRY ist jede Substanz, die Protonen (Wasserstoffionen) abgibt eine Säure. Analog ist jede Substanz, die Protonen aufnimmt eine Base:

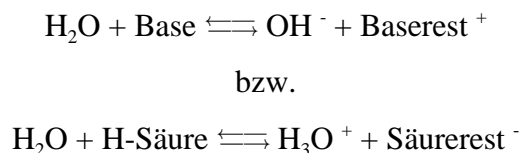


Diese Reaktion stellt sich in wässrigen Medien als so genanntes BRØNSTEDT-Gleichgewicht ein. Die Übertragung des Protons von der Säure auf die Base ist eine der wichtigsten Protonentransferreaktionen und hat ebenfalls große Bedeutung in der Biologie. Wasser wirkt zu gleichen Teilen wie eine Base bzw. eine Säure:



In chemisch reinem Wasser mit einer Temperatur von 25°C beträgt die Gleichgewichtskonzentration sowohl der Wasserstoff-Ionen wie der Hydroxyl-Ionen $1,0 \cdot 10^{-7}$ Mol (ATKINS 1993).

Die Zugabe einer Base oder einer Säure zu chemisch reinem Wasser verschiebt das Gleichgewicht auf die Seite der Wasserstoff-Ionen:



Für viele naturwissenschaftliche und technische Anwendungen spielt die molare Konzentration bzw. Aktivität der Wasserstoff-Ionen (H^+)¹ eine wichtige Rolle (ATKINS 1993). Der negative

¹ Diese Schreibweise und Benennung ist nur symbolisch. Freie Protonen können in Lösungen nicht auftreten, da sie sich an Wassermoleküle anlagern.

dekadische Logarithmus der Wasserstoffionen-Aktivität ist der pH-Wert. Die Messung erfolgt überwiegend potentiometrisch. Dazu wird neben einer Bezugselektrode auch eine für diese Wasserstoff-Ionen selektive Messelektrode benötigt.

Als Messelektrode für den pH-Wert dienen überwiegend so genannte Glaselektroden. Bei diesen taucht eine Glasmembran in die zu messende Lösung. Diese fungiert als Ionenaustauscher für Wasserstoffionen. Auf der anderen Seite der Glasmembran befindet sich eine Pufferlösung mit bekanntem und konstantem pH-Wert. Zwischen Pufferlösung und Messlösung baut sich ein Wasserstoff-Ionen-Gradient und in der Folge ein von dem Gradienten abhängiges Potenzial auf. Dieses wird über eine Silber-Silberchloridelektrode abgeleitet (DIN 19263 : 1989). Aus der NERNST'schen Gleichung ergibt sich der Zusammenhang (CASTELLAN 1971, S. 411 f.)

$$E = E^{\circ} - \frac{2,303 \cdot RT}{F} \text{pH} \equiv E^{\circ} - 0,0592 \cdot \text{pH} \quad (298\text{K}) \quad (1)$$

Gleichung 1: Zusammenhang zwischen pH-Wert und elektromotorischer Kraft der Messkette

Legende zu Gleichung 1

E	=	Einzelpotenzial der Messelektrode (Glaselektrode)		
E ⁰	=	Standardpotenzial	R	= Gaskonstante
F	=	Faraday-Konstante	T	= Temperatur in K
pH	=	pH-Wert		

Für 298 K (Normalbedingung) ergibt sich der hinter dem Äquivalenzzeichen dargestellte lineare Zusammenhang. Steigt der pH-Wert um den Betrag 1, so steigt das Einzelpotenzial einer Glaselektrode um 59,2 mV. Diese Spannungsdifferenz wird als die theoretische Steigung der pH-Elektrode oder NERNST-Steilheit bezeichnet.

Wird die Potenzialdifferenz (ΔE) der Messzelle "Bezugselektrode | Kalibrierpuffer | Messelektrode" für mindestens zwei Kalibrierpuffer mit bekanntem pH-Wert bestimmt, so kann aus einer beliebigen gemessenen Potenzialdifferenz der Messzelle der unbekannte pH-Wert durch lineare Interpolation ermittelt werden. Die Puffer sind dabei so zu wählen, dass der unbekannte pH-Wert zwischen den pH-Werten der Kalibrierpuffer liegt (DIN 19263 : 1989).

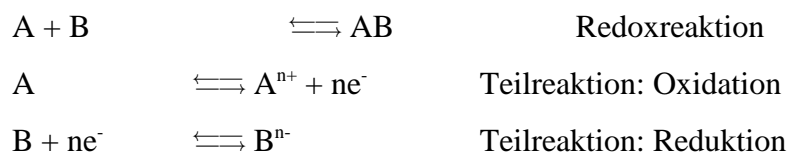
In der Praxis wird von den Messgeräten die Umrechnung der Potenzialdifferenzen in pH-Werte nach automatischer Kalibrierung direkt vorgenommen. Hierbei werden die Parameter für die tatsächliche Steilheit und Asymmetriespannung der Messkette ermittelt. Letztere ist der Potenzialabfall zwischen der Außen- und Innenschicht der Glasmembran (FISHER 1984). Die

Kalibrier-Pufferlösungen sind international genormt und können in zertifizierter Qualität bezogen werden.

Wegen der Temperaturabhängigkeit der NERNST-Steilheit ist eine Temperaturkompensation bei der Messung vorzunehmen. Diese erfolgt im allgemeinen direkt im Messgerät anhand eines simultan aufgenommenen Temperaturwertes. Der Temperatursensor kann dabei in die Messkette eingebaut oder separiert sein.

3.1.3 Redoxpotenzial

Viele in der Natur ablaufende Reaktionen sind sogenannte Redoxreaktionen. Das sind chemische Reaktionen, bei denen Elektronen übertragen werden. Dabei wird die Reaktion, bei der Elektronen abgegeben werden als Oxidation bezeichnet. Umgekehrt wird die Reaktion, bei der Elektronen aufgenommen werden als Reduktion bezeichnet. Daraus erklärt sich, dass eine Reduktion nicht ohne Oxidation auftreten kann und umgekehrt (ZEECK et al. 2000, S. 72). Redoxreaktionen verlaufen nach dem Schema:



Stoff A gibt n Elektronen (e^{-}) ab, ist also Elektronendonator oder Reduktionsmittel. Stoff B nimmt dieselbe Anzahl Elektronen auf, ist also Elektronenakzeptor oder Oxidationsmittel. Nach dem zweiten Hauptsatz der Thermodynamik kann das Redoxpotenzial als Maß für die maximale Arbeit einer bei konstantem Druck und Temperatur verlaufenden Redoxreaktion interpretiert werden. Es ist ein Maß für die Änderung von Gibb's freier Energie (ΔG) des Redoxsystems (ZEECK et al. 2000, S. 123).

Wie bei allen chemischen Reaktionen stellt sich auch bei den Redoxreaktionen ein mit dem Massenwirkungsgesetz beschreibbares Gleichgewicht ein. Dieses ist durch auch durch den Quotienten der Konzentrationen bzw. elektrochemischen Aktivitäten (in der Folge: "Aktivitäts-Quotient") der Reaktionspartner gekennzeichnet.

Lässt man Redoxreaktionen in einer elektrochemischen Zelle ablaufen, so kann man die bei der Reaktion übertragenen Elektronen über die Elektroden leiten. Die sich in einer solchen elektrochemischen Zelle bildende Potenzialdifferenz ist ein Maß für die Aktivitäts-Quotienten der beteiligten oxidierten und reduzierten Stoffe. Die über die Elektroden geleiteten Elektronen

können elektrische Arbeit verrichten. Mit der Abgabe elektrischer Arbeit verändert sich der Aktivitäts-Quotient der Redoxsysteme. Folgend sinkt die Potenzialdifferenz der Zelle, man spricht von Entladung.

In der beschriebenen elektrochemischen Zelle fungieren die Elektroden als Elektronendonatoren bzw. -akzeptoren der Redoxreaktion. Bei vielen Redoxreaktionen im wässrigen Milieu liegen jedoch sowohl die oxidierte als auch die reduzierte Form als Ionen vor. Um das Redoxpotenzial solch einer Reaktion zu messen, benötigt man einen Elektronenmittler, der selbst chemisch inert ist. Dies kann zum Beispiel eine in das Redoxsystem eintauchende Platin- oder Goldelektrode sein. Hierauf beruht die Messung des Redoxpotenzials.

Eine elektrochemische Zelle zur potentiometrischen Messung des Redoxpotenzials besteht zum einen aus einer Bezugshalbzelle. Dies kann zum Beispiel die bereits beschriebene Silber-Silberchlorid-Bezugselektrode sein. Diese Halbzelle ist über eine Salzbrücke mit einer zweiten Halbzelle verbunden, in der sich die Messlösung (Redoxsystem) befindet. In diese Messlösung taucht, wie beschrieben, eine chemisch inerte Messelektrode. Zwischen Mess- und Bezugselektrode bildet sich eine elektrische Potenzialdifferenz, das Redoxpotenzial.

Gemäß internationaler Konventionen wird das Redoxpotenzial in mV angegeben und auf die NHE bezogen. Das Potenzial der Bezugszelle ist auf die NHE umzurechnen um das Einzelpotenzial der Redox-Messelektrode zu erhalten (vgl auch 3.1.1). Dies ist unumgänglich, um Redoxpotenziale vergleichbar zu machen. In der für die Versuche im Rahmen dieser Arbeit genutzten Messanordnung wird eine Silber/Silberchloridelektrode mit 3 molarer KCl als Bezugselektrolyt gemessen. Daher ist die gemessene Redoxpotenzial auf die NHE umzurechnen:

$$E_{NHE} = E^T_{Bez} + E_{mess} \quad (2)$$

Gleichung 2: Umrechnung des gemessenen Redoxpotenzials auf die NHE

Legende zu Gleichung 2

E^T_{Bez}	=	Spannung der Bezugselektrode gegen NHE bei der Temperatur T. Für 298 K und Silber/Silberchlorid mit 3 M KCl als Bezugssystem: +0,2224 V (HAMMANN und VIELSTICH 2003, S. 583).
E_{mess}	=	gemessenes Redoxpotenzial gegen die Bezugselektrode
E_{NHE}	=	Redoxpotenzial auf die NHE bezogen [= Redoxpotenzial (NHE, mV)]

Das Redoxpotenzial stellt eine Momentaufnahme des chemischen Status der Redoxreaktion dar. Die über den äußeren Stromkreis fließenden Elektronen verschieben das Reaktionsgleichgewicht. Daher ist ein hoher Eingangswiderstand des Messgerätes nötig, um das Potenzial durch die Messung nicht zu verändern. Diese Bedingung wird von heutigen elektronischen Messgeräten erfüllt.

Die theoretische Ableitung des Redoxpotenzials ergibt sich aus dem zweiten Hauptsatz der Thermodynamik. Sie wird als NERNST-Gleichung bezeichnet (HAMMANN und VIELSTICH 2003, S. 72):

$$E = E^0 + \frac{R \cdot T}{n \cdot F} \ln \frac{a_{ox}}{a_{red}} \quad (3)$$

Gleichung 3: NERNST-Gleichung

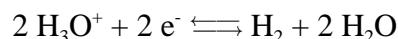
Legende zu Gleichung 3

E	=	Redoxpotenzial
E ⁰	=	Standardpotenzial des Redoxsystems, das sich einstellt, wenn die Aktivität a von Reduktionsmitteln und Oxidationsmitteln gleich ist
n	=	die Anzahl der ausgetauschten Elektronen
R / F	=	Gas- / Faraday-Konstante
T	=	Temperatur in K
a	=	Aktivität der Ionen

Aus der NERNST-Gleichung folgt, dass ein unbekanntes Redoxsystem durch E⁰, die Anzahl der ausgetauschten Elektronen und seinen Aktivitätsquotienten beschrieben wird. Diese sind jedoch rechnerisch nicht jeder für sich zu ermitteln. Da die Temperatur nicht nur Bestandteil der NERNST-Gleichung ist, sondern auch E⁰ eine Funktion der Temperatur darstellt, kann die Temperatur rechnerisch nicht kompensiert werden. Zur Vergleichbarkeit von Redoxsystemen unbekannter Zusammensetzung ist daher eine Messung bei konstanter Temperatur nötig. Gleichwohl ist der Temperatureinfluss auf E⁰ gering, er liegt etwa in der Größenordnung von 1 mV / K (Wert für Silberchlorid-Bezugselektroden aus SKOOG und LEARY 1996, S. 529). Eine Temperaturtoleranz von maximal ± 1 K sollte daher für Vergleiche der Redoxpotenziale im Rahmen dieser Arbeit vertretbar sein. Um elektrochemische Standardbedingungen herzustellen werden Messungen im Rahmen dieser Untersuchung bei einer Temperatur von 298 K durchgeführt.

Das Redoxpotenzial ist vom pH-Wert des Mediums abhängig (HEIMANN und WISSER 1965, S.

250ff.). Auch der pH-Wert kann als Redoxpotenzial an der Standardwasserstoffelektrode gemessen werden. Für diese gilt als Reaktionsgleichung:



Entsprechend ist das Einzelpotenzial einer solchen Zelle durch die NERNST'sche Gleichung gegeben:

$$E = E^0 + \frac{RT}{F} \ln \frac{a_{\text{H}_3\text{O}^+}}{\sqrt{p_{\text{H}_2}}} \quad (4)$$

Gleichung 4: NERNST-Gleichung für die Standard-Wasserstoffelektrode

Legende zu Gleichung 4

E	=	Einzelpotenzial der NHE	E ⁰	=	Standardpotenzial der NHE
R / F	=	Gas-/Faraday-Konstante	T	=	Temperatur in K
a	=	Aktivität der Wasserstoff-Ionen			
p	=	Partialdruck des die Elektrode umspülenden Wasserstoffgases			

Definitionsgemäß ist für die Standardwasserstoffelektrode $E^0 = 0$ und $p = 1$ atm. Ersetzt man den natürlichen durch den dekadischen Logarithmus ergibt sich:

$$E = -\frac{2,303RT}{F} \log a_{\text{H}_3\text{O}^+} \equiv -0,0592 \text{ pH} \quad (298^\circ \text{ K}) \quad (5)$$

Gleichung 5: Modifizierte NERNST-Gleichung der Standardwasserstoffelektrode

Dieser Zusammenhang gilt für alle Redoxsysteme analog: Ein saures Milieu erhöht die Oxidationstendenz (steigendes Redoxpotenzial), umgekehrt ein alkalisches die Reduktionstendenz (sinkendes Redoxpotenzial) (HOFFMANN 1988). Eine Korrektur des Redoxpotenzials auf einen festzulegenden pH-Wert würde den Vergleich der Redoxpotenziale von Medien mit unterschiedlichen pH-Werten ermöglichen. Auf dieser Korrektur, die sich aus Gleichung 5 ergibt, beruht die Berechnung des rH-Wertes als alternativer Angabe des Redoxpotenzials. Hieraus kann folgende Korrekturformel auf $\text{pH} = 7$ abgeleitet werden ($T = 298 \text{ K}$):

$$\begin{aligned} E_{\text{NHE}}^{\text{pH } 7} &= E_{(\text{mess}; \text{NHE})} + 0,0592 \text{ pH}_x - 0,0592 \cdot \text{pH}_7 \\ &= E_{(\text{mess}; \text{NHE})} + 0,0592 \text{ pH}_x - 0,4144 \end{aligned} \quad (6)$$

Gleichung 6: pH-korrigiertes Redoxpotenzial

Legende zu Gleichung 6

$E_{\text{NHE}}^{\text{pH}7}$	=	nach pH 7 korrigiertes Redoxpotenzial, kurz pH korrigiertes Redoxpotenzial
$E_{(\text{mess};\text{NHE})}$	=	gemessenes Redoxpotenzial, umgerechnet auf Standardwasserstoffelektrode (NHE)
pH_x	=	pH-Wert der gemessenen Lösung

Diese pH-Kompensation kann jedoch nur für solche Redoxsysteme angewendet werden, in denen nur ein Elektron ausgetauscht wird. Auch ergeben sich - gerade bei organischen Redoxsystemen - teilweise nichtlineare oder nur in bestimmten pH-Bereichen lineare Zusammenhänge zwischen Redoxpotenzial und pH-Wert. Daher ist eine pH-Kompensation nur empirisch oder für Medien bekannter Zusammensetzung möglich (HEIMANN und WISSER 1965). Aus diesem Grunde ist die Verwendung des rH-Wertes zur Beschreibung von Redoxsystemen abzulehnen. Auch ist eine rechnerische Kompensation unterschiedlicher pH-Werte beim Redoxpotenzial durch eine allgemeingültige Formel, wie Gleichung 6, ist unmöglich.

Bisher wurde das Redoxpotenzial für Medien betrachtet, in denen nur ein Redoxsystem vorliegt. Liegt jedoch ein Medium mit mehreren Redoxsystemen vor, bildet sich ein Mischpotenzial. Hier stellt sich ein Reaktionsgleichgewicht so ein, dass die Potenziale der beiden Redoxsysteme einander entsprechen. Das bedeutet, dass oxidierte Formen der Redoxsysteme zu Lasten der reduzierten Form anderer Systeme reduziert werden und umgekehrt. Dies kann bis zur vollständigen Reduktion bzw. Oxidation beteiligter Stoffe führen (HEIMANN und WISSER 1965).

Die bisherigen Betrachtungen bezogen sich auf reversible Redoxsysteme. Dies sind solche Redoxpaare, die sich - gegebenenfalls unter Energiezufuhr - in beiden Richtungen einander umwandeln lassen. Die hierbei übertragenen Elektronen prägen der Messelektrode das gemessene Redoxpotenzial auf.

In biologischen Medien - wie sie im Rahmen dieser Arbeit betrachtet werden - liegen häufig irreversible und semireversible Redoxpaare vor. Diese verhalten sich an der Messelektrode abweichend von reversiblen Redoxpaaren (HEIMANN und WISSER 1965, S. 258).

Irreversible Redoxpaare sind dadurch gekennzeichnet, dass sowohl die oxidierte wie auch die reduzierte Form nicht in Elektronenaustausch mit der Metallelektrode treten können. Es bildet sich daher kein definiertes Potenzial an der Redoxelektrode heraus (HEIMANN und WISSER 1965, S. 258).

Man spricht von semireversiblen Redoxsystemen, wenn nur eine der Formen mit der

Redoxelektrode Elektronen austauschen kann (HEIMANN und WISSER 1965, 258ff.) Aus thermodynamischer Sicht (NERNST-Gleichung) wäre dann zu erwarten, dass sich ein Potenzial von minus oder plus unendlich einstellt. Der Elektronenaustausch mit der für die Messung benutzten Messelektrode verläuft aber träge und die Reaktionsgeschwindigkeit vermindert sich mit fortschreitendem Elektronenaustausch. Die Reaktion bleibt nahezu stehen, wenn ein bestimmtes - mehr oder minder reproduzierbares - Potenzial erreicht ist. Dieses Potenzial wird als Grenzpotenzial des Mediums bezeichnet (MICHAELIS 1933, S. 233).

Je größer die Vielfalt der in einem Medium vorhandenen Redoxsysteme, desto schwieriger ist das Redoxpotenzial dieses Mediums mathematisch beschreibbar. Die Ableitung von Beziehungen des Redoxpotenzials zu bestimmten Eigenschaften des zugrundeliegenden Mediums ist in diesen Fällen nur empirisch möglich.

In Organismen können Redoxsysteme durch Membranen oder ähnliche Barrieren voneinander getrennt sein. In der Folge bilden sich Redoxgradienten aus. Wenn die Barrieren während der Probenaufbereitung zerstört werden, können - bis dahin im Organismus durch die räumliche Trennung verhinderte - Redoxreaktionen ablaufen. Mit großer Wahrscheinlichkeit werden also die in der aufbereiteten Probe gemessenen Redoxpotenziale mit den *in vivo* vorhandenen Redoxgradienten nicht zusammenhängen (vgl. BENADA 2001). Die Messung von Redoxgradienten *in vivo* ist zwar möglich, jedoch nicht unproblematisch. Besonders bei Samen, wie beim Weizen, ist mangels ausreichend Wassers in der Probe eine potentiometrische Messung *in vivo* unmöglich.

Eine weitere Schwierigkeit bei der Probenaufbereitung ist, dass durch die Zerstörung der Ursprungsprobe Sauerstoff in die Probe eingebracht wird. Auch dieser verursacht eine Verschiebung der Redoxgleichgewichte. Daneben können enzymatische Reaktionen in Gang gesetzt werden, die die ursprüngliche Stoffzusammensetzung und damit die elektrochemischen Parameter verändern.

Der Sensor für die Messung des Redoxpotenzials ist die Messelektrode. Der Einfluss der Messelektrode - wengleich nach der NERNST'schen Gleichung nicht vorhanden - auf das Messergebnis soll im folgenden theoretisch betrachtet werden.

Platin ist als Katalysatormetall in der Chemie bekannt. Es vermittelt den Elektronenaustausch bei chemischen Reaktionen und senkt dadurch deren Aktivierungsenergie. Im Messmedium übernimmt Platin die Funktion eines Elektronenkatalysators (HAMMANN und VIELSTICH 2003,

S. 70). Katalysiert werden sowohl Redoxreaktionen einzelner Redoxpaare wie auch Reaktionen mehrerer vorhandener Redoxsysteme untereinander. Daraus folgend kann ein Elektronentransfer innerhalb der Messflüssigkeit stattfinden, ohne dass über den äußeren Stromkreis Ladungen ausgetauscht werden. Hierdurch verschiebt sich jedoch der Aktivitätsquotient der Redoxsysteme. Als Folge stellt sich ein konstantes Potenzial erst nach einer bestimmten Zeit ein, nämlich, wenn ein neues, stabiles Gleichgewicht erreicht ist. Das Redoxpotenzial kann als Funktion der Zeit gemessen werden. Für andere inerte Elektrodenmetalle gilt dieser Mechanismus analog. In der Wirkung des Elektrodenmetalls als Katalysator könnte ein wesentlicher Grund für das unterschiedliche Verhalten von biologischen Redoxsystemen an unterschiedlichem Messelektroden (Bauform und Metall) zu suchen sein.

Als Folge der Interaktion von Redoxsystem und Elektrodenmetall wird bei der Messung von Redoxpotenzialen in biologischen Flüssigkeiten ein anfangs steiler und allmählich auf eine Asymptote zulaufender Verlauf des Redoxpotenzials im Zeitverlauf (Messkurve) beobachtet. Die Messkurve wird mit einer kubischen Funktion des Redoxpotenzials zur Zeit gut beschrieben. Die Zeit bis zum Einstellen eines konstanten Potenzials ist nach eigenen Beobachtungen für das untersuchte Medium charakteristisch. Bei Lösungen mit nur einem Redoxpaar, z.B. der einer Lösung aus Fe(II)- und Fe(III)-Ionen hingegen stellt sich ein konstantes Potenzial innerhalb weniger Sekunden ein.

Die für Redoxmesselektroden verwendeten inerten Metalle liefern, aufgrund differierender Austauschstromdichte und Chemisorption von Sauerstoff, in Abhängigkeit vom Medium unterschiedliche Messwerte (KRAUTGARTNER 2001). Blanke und möglichst große Flächen sind von Vorteil. Dies soll zu einer geringeren Absorption von Gasen an der Oberfläche und kleinen Polarisationsstromdichten führen und so Störeinflüsse minimieren. Die Polarisation wird aber auch mit einer möglichst stromlosen Messung verhindert (KORDATZKI 1935).

KRAUTGARTNER (2001) fand in einer vergleichenden Untersuchung von Gemüsesäften hohe Korrelationen zwischen den Messwerten bei Gold- und Platinelektroden. Die Abstände und Korrelationen der Messwerte voneinander differierten in Abhängigkeit vom Probenmaterial. Insgesamt waren jedoch beide Elektroden geeignet, das Probenmaterial in gleicher Weise zu differenzieren. Das Elektrodenmetall und die Bauart der Elektrode haben demnach Einfluss auf den Absolutwert des ermittelten Redoxpotenzials. Daraus folgend ist es notwendig, die jeweilige Messelektrode mit dem zu untersuchenden Medium zu testen (KRAUTGARTNER 2001). Unterschiede bei der Einstellung des Potenzials an Gold- und Platinelektroden fand auch

NAKVASIL (2002) bei der Untersuchung verschiedener Gemüsesäfte.

Ein weiterer Grund für unterschiedliche Redoxpotenziale an unterschiedlichen Elektroden ist in der so genannten Überspannung der jeweiligen Elektrodenmetalle zu suchen. Diese beschreibt eine Barriere für den Durchtritt eines Ions durch die elektrochemische Doppelschicht. Sie variiert für das jeweilige Ion und für das jeweilige Metall (HAMMANN und VIELSTICH 2003, S. 145 f.). Entsprechend stellen sich an der Doppelschicht metall- und stoffgemischabhängig unterschiedliche Potenziale ein.

Der jeweilige Zustand der Oberfläche der Messelektrode ist ebenfalls von großer Bedeutung. Durch Konditionierung ist sicherzustellen, dass dieser zu Beginn einer Messung standardisiert ist. Verschiedene Konditionierungsmethoden wurden von DEIBNER und MORGUES (1969) miteinander verglichen. Hierbei zeigte sich, dass der Einfluss der Konditionierungsmethode auf die Präzision der Messergebnisse erheblich ist.

Da diese Unterschiede zwischen den Messelektroden und der Einfluss auf das Messergebnis von erheblicher Bedeutung sind, soll eine eigene Untersuchung zum Verhalten von zwei verschiedenen Redoxelektroden in einem Exkurs beschrieben werden (Kapitel 5). Für Zwecke der Methodenentwicklung wurden Messelektrode und Konditionierung genau spezifiziert um die Einflüsse zu minimieren.

3.1.4 Spezifische elektrische Leitfähigkeit der Elektrolyte

Die mit der elektrochemischen Methode vermessenen Matrices sind wässrige Lösungen organischer und anorganischer Ionen (Elektrolyte). Elektrolyte leiten den elektrischen Strom. Es besteht ein allgemeiner Zusammenhang zwischen der Ionen-Konzentration und der Leitfähigkeit. Dieser ist in der Folge noch zu spezifizieren.

Als Ionen werden die Zerfallsprodukte polarer Stoffe bezeichnet, die in Wasser gelöst werden. Dieser Zerfall verläuft freiwillig. Wie viele Ionen sich hierbei bilden hängt von der Art des Stoffes (Löslichkeitsprodukt), der Temperatur der Lösung und von der Gegenwart anderer Stoffe ab (KÖPKE 1994, S. 583).

Besitzt ein Flüssigkeitszylinder mit einer Elektrolytlösung (Messzelle) die Länge l [cm] und den Querschnitt q [cm²] den Widerstand ω [Ω], so ist der spezifische Widerstand s wie folgt definiert (EGGERT 1968, S. 597):

$$s = \frac{\omega \cdot q}{l} [\Omega \cdot cm] \quad (7)$$

Gleichung 7: Spezifischer elektrischer Widerstand

Die spezifische Leitfähigkeit κ ist als Kehrwert von s definiert:

$$\kappa = \frac{1}{s} = \frac{l}{\omega \cdot q} [\Omega^{-1} \cdot cm^{-1}] \quad (8)$$

Gleichung 8: Spezifische Leitfähigkeit

Die Einheit $[\Omega^{-1} \cdot cm^{-1}]$ ist gleichzusetzen mit der gebräuchlicheren $[S \cdot cm^{-1}]$. Die Größe ω kann mit elektronischen Messgeräten bestimmt werden. Der Quotient

$$Z = \frac{l}{q} \quad (9)$$

Gleichung 9:
Zellkonstante

ist die sogenannte Zellkonstante. Diese wird durch das Volumen der Messzelle bestimmt. Eine Leitfähigkeitsmesszelle besteht aus einem definierten Raum (z.B. einem Glasrohr) in den zwei inerte Metallelektroden hineinragen. Als Metall wird bevorzugt so genanntes platinisiertes Platin verwendet. Um die Polarisierung der Elektroden und die Elektrolyse des Messmediums zu verhindern, wird zur Messung eine Wechselspannung verwendet.

Wird eine Messzelle mit einem Elektrolyten bekannter spezifischer Leitfähigkeit gefüllt, ergibt sich ihre Zellkonstante durch Umstellen von Gleichung 8. Auf diese Weise erfolgt auch die Kalibrierung der Leitfähigkeitsmessgeräte.

Als definierte Elektrolyten werden KCl-Lösungen genutzt. Deren spezifische Leitfähigkeiten sind für einige Temperaturen und Konzentrationen empirisch bestimmt worden. Dabei zeigte sich eine mit Temperatur und Konzentration steigende Leitfähigkeit. Die Temperaturabhängigkeit kehrt sich bei höheren Temperaturen im allgemeinen um (EGGERT 1968, S. 598). Da der Zusammenhang zwischen Temperatur und Leitfähigkeit nicht linear ist, ist eine Temperierung der Proben und eine Angabe der Probertemperatur bei der Messung unumgänglich. Weil für die Messung des Redoxpotenzials ebenfalls die Temperatur konstant zu halten ist, werden alle Messungen im Rahmen dieser Arbeit bei $298 \text{ K} \pm 1 \text{ K}$ durchgeführt. Diese Temperaturkonstanz ist auch für die Messung der spezifischen Leitfähigkeit als ausreichend

anzusehen.

Wie aus Abbildung 4 zu ersehen ist, ist auch der Zusammenhang zwischen Konzentration und Leitfähigkeit keineswegs immer linear. Der Grund hierfür ist darin zu suchen, dass - im Gegensatz zu Metallen - der Strom nicht durch freie Elektronen im Metallgitter übertragen wird. Bei Elektrolyten findet eine Bewegung positiv und negativ geladener Teilchen (der Ionen) im elektrischen Feld statt. Diese Teilchen werden vom elektrischen Feld und von den mit zunehmender Konzentration steigenden Kräften untereinander beeinflusst (WOLFF 1966, S. 338f.).

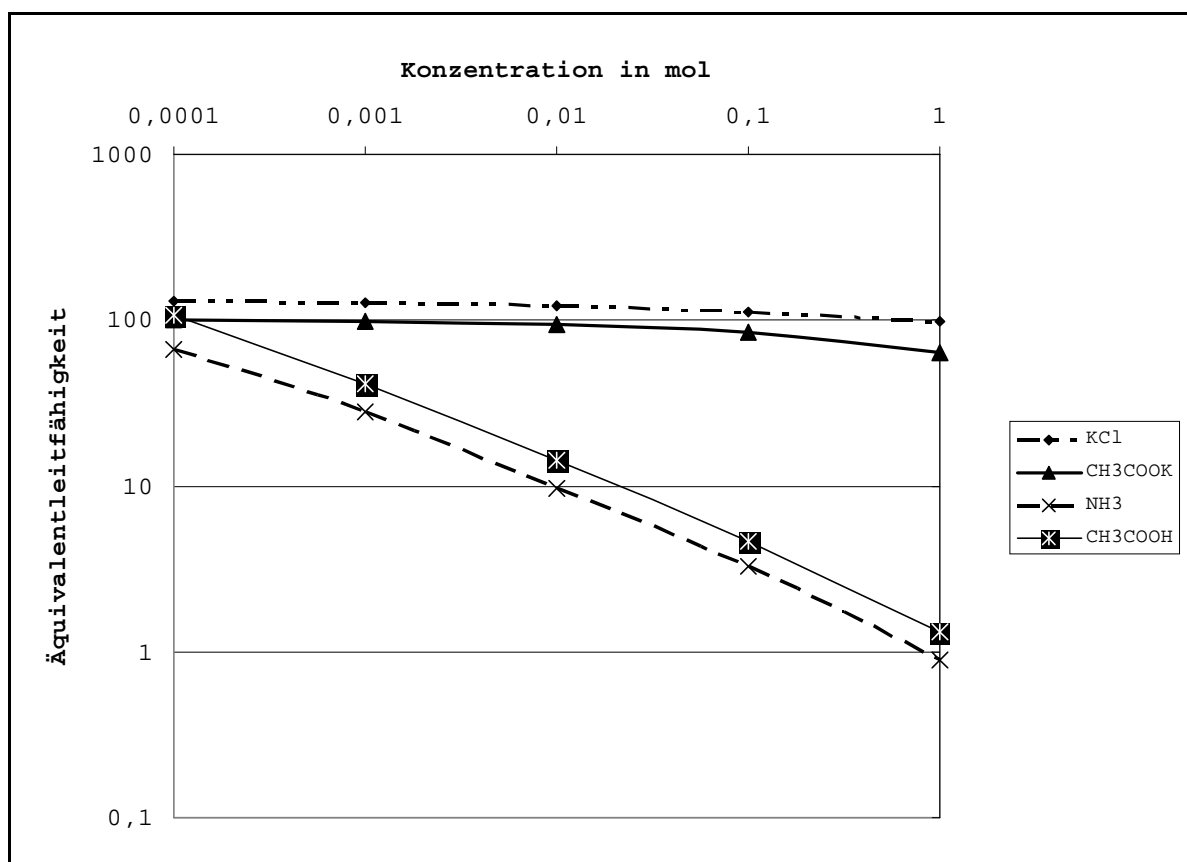


Abbildung 4: Konzentrationsabhängigkeit der Äquivalentleitfähigkeit (molare Leitfähigkeit) von KCl, Kaliumacetat (CH₃COOK), Ammoniak (NH₃) und Essigsäure (CH₃COOH) für 18°C (WOLFF 1966, S. 338)

Ionen sind in wässrigen Lösungsmitteln von einer Hydrathülle umgeben, man spricht von Solvatisierung. Die Größe dieser Hülle ist zum einen vom Durchmesser des Ions, zum anderen von seiner Ladung abhängig. Mit zunehmendem Durchmesser solvatisierter Ionen nimmt die Beweglichkeit ab. Außerdem ist die Beweglichkeit zur Viskosität des Mediums umgekehrt proportional (WOLFF 1966, 338ff.).

Die Menge der in einer Lösung befindlichen solvatisierten Ionen ist vom Dissoziationsgrad

abhängig. Sie steigt mit zunehmender Konzentration, bei schwachen Elektrolyten langsamer als bei starken. Starke Elektrolyten dissoziieren bereits bei geringen Konzentrationen vollständig (WOLFF 1966, 338ff.).

Die Wanderungsgeschwindigkeit der Ionen wird mit zunehmender elektrischer Feldstärke kaum erhöht. Die mit steigender Feldstärke zugeführte Stromarbeit wird nahezu vollständig in Wärmearbeit umgewandelt. Die Stärke des angelegten Feldes ist also nachrangig, wenn die Wärmearbeit durch eine Temperierung der Probe abgeführt wird (WOLFF 1966, 338ff.).

Die Beweglichkeit der Wasserstoffionen ist gegenüber anderen Ionen etwa fünffach höher (EGGERT 1968, S. 593). Dies liegt an der gegenüber anderen Ionen abweichenden Stromleitung durch Tunnelung. Man spricht von der Extraleitfähigkeit der Wasserstoffionen (HAMMANN und VIELSTICH 2003, S. 31ff.). Die Leitfähigkeit ist daher pH-abhängig. Mangels empirischer Modelle ist diese Abhängigkeit jedoch nicht kompensierbar.

Die vorangegangenen Ausführungen machen deutlich, dass die Leitfähigkeit nicht als Maß für die Ionenkonzentration eines Lösungsmittels angesehen werden kann. Für bestimmte Ionen sind durch das Sinken der Leitfähigkeit bei hohen Konzentrationen zwei Konzentrationen zu einem Leitfähigkeitswert denkbar. Zudem hat die Viskosität, die bei den zu messenden Matrices unterschiedlich ist, Auswirkungen auf die Leitfähigkeit. Eine klare Beziehung kann jedoch zwischen der Beweglichkeit der Ionen und der Leitfähigkeit gesehen werden.

3.1.5 P-Wert

Als integrierender Parameter für Redoxpotenzial, pH-Wert und Leitfähigkeit wurde zuerst durch VINCENT der P-Wert vorgeschlagen (ELMAU 1985). Er leitet sich zuerst aus dem Ohmschen Gesetz her (HOFFMANN 1988):

$$\begin{array}{l}
 R = \frac{U}{I} \\
 \frac{1}{R} = \frac{I}{U} \quad \left| \kappa \equiv \frac{1}{R}; U \equiv E_{NHE} \right. \\
 \kappa = \frac{I}{E_{NHE}} \quad \left| \cdot E_{NHE} \right. \\
 I = \kappa \cdot E_{(NHE; pHx)}
 \end{array} \quad (10)$$

Gleichung 10: Anwendung des Ohmschen Gesetzes zur Herleitung des P-Wertes

Legende zu Gleichung 11

R	=	elektrischer Widerstand
U	=	elektrische Spannung
κ	=	spezifische elektrische Leitfähigkeit
E	=	pH-korrigiertes Redoxpotenzial, Bezug auf NHE
I	=	elektrischer Strom

Hierbei ist I ein hypothetischer Strom, der bei der angegebenen Spannung durch den Flüssigkeitswiderstand der Messzelle fließen würde. Kritisch anzumerken ist hierzu, dass κ keinen physikalischen Ohmschen Widerstand darstellt. Dies wird schon an der Einheit von κ [$S \text{ cm}^{-1}$] deutlich. Die Anwendung des physikalischen Ohmschen Gesetzes auf physikochemische Parameter erscheint daher problematisch.

Unter Anwendung der Gleichung für die elektrische Leistung und für den rH-Wert ergibt sich weiter:

$$rH = \frac{E_{(mess;NHE)}}{0,0296} + 2 \cdot pH$$

$$E_{(mess;NHE)} = 0,0296(rH - 2 pH)$$

$$P = U \cdot I = (0,0296(rH - 2 pH)) \cdot ((0,0296(rH - 2 pH)) \cdot \kappa)$$

$$P = (0,0296(rH - 2 pH))^2 \cdot \kappa$$

Gleichung 11: Herleitung der Formel für den P-Wert nach WOLF und REY, 1997

Aus der P-Wert-Formel wird ersichtlich, dass Redoxpotenzial und pH-Wert einen durch die Quadrierung überdimensionalen Einfluss auf den P-Wert haben, die spezifische Leitfähigkeit jedoch relativ untergewichtet ist. Ob dies zweckmäßig ist kann nur anhand empirischer Untersuchungen bestimmt werden. Ein solcher Nachweis steht jedoch aus und war nicht Bestandteil dieser Arbeit.

Einen anderen Ansatz, die einzelnen Parameter zu einem Ergebnis zusammenzufassen, hat SCHUBERT (1971) verfolgt, der die Anfälligkeit für Fleischbräune bei Äpfeln in Zusammenhang mit elektrochemischen Parametern untersuchte. Er bildete für zehn Apfelsorten aufgrund der Parameter elektrische Leitfähigkeit, pH- und rH-Wert Ränge für jede einzelne Sorte und jeden einzelnen Parameter. Die Ränge wurden mit 2 (Leitfähigkeit), 0,5 (pH) bzw. 1 (rH) gewichtet und pro Sorte addiert. Die so ermittelte Gesamtpunktzahl pro Sorte wurde wieder Rängen zugeordnet. Es zeigte sich eine große Übereinstimmung des ermittelten Ranges in Bezug auf die Neigung zur Fleischbräune. Die Rangwichtungen wurden dabei aufgrund empirischer Erfahrungen gebildet. Ein solches Vorgehen setzt jedoch die Erhebung umfangreicher Datenmengen voraus, was nicht Bestandteil der vorliegenden Arbeit war.

3.1.6 Zusammenfassung: Systematische Beurteilung der Faktoren, die das Ergebnis beeinflussen können (Messtechnik)

Tabelle 1: Systematische Beurteilung der Faktoren, die das Ergebnis beeinflussen können (Messtechnik)

Faktor	Erläuterung	kritisch? Begründung
Überführung in die wässrige Phase	Die als Feststoff vorliegenden Weizenproben müssen in die wässrige Phase überführt werden.	ja Standardisierung der Methode. Methodenpräzision prüfen.
Redoxpotenzial: Einfluss des Luftsauerstoffes bei der Probenvorbereitung / Extraktion	Die Messung des Redoxpotenzials beruht auf der Feststellung des Verhältnisses zwischen reduzierten und oxidierten Kompartimenten in der Lösung. Eine Oxidation dieser Kompartimente durch den Sauerstoff der Luft ist daher zu vermeiden oder zu kontrollieren.	ja Standardisierung der Methode. Methodenpräzision prüfen.
Temperaturabhängigkeit der elektrochemischen Parameter	Die Parameter pH-Wert, Redoxpotenzial und spez. Leitfähigkeit weisen eine Temperaturabhängigkeit auf	nein Temperierung der Probe möglich. Toleranz: ± 1 K
Querabhängigkeiten der Parameter	Die Parameter weisen untereinander Querabhängigkeiten auf: Extraleitfähigkeit des H^+ -Ions (spez. Leitfähigkeit abhängig vom pH-Wert), pH-Abhängigkeit des Redoxpotenzials	nein Parameter können losgelöst voneinander betrachtet und verglichen werden. Es ist aber nicht auszuschließen, dass Messunterschiede bei einem Parameter nur von Messunterschieden eines anderen Parameters verursacht werden.
Potenzial der Bezugs elektrode	Das Potenzial der Bezugs elektrode muss bei jeder Messung konstant bleiben. Gefahr der Verschmutzung der Salzbrücke (Diffusionspotenziale)	nein Auswahl einer geeigneten Bezugs elektrode mit einer für das Medium geeigneten Salzbrücke
Redoxpotenzial: Einfluss der Messelektroden-Metalls	verschiedene Elektrodenmetalle liefern unterschiedliche Redoxpotenziale in demselben Messmedium	nein Spezifizierung der zur Messung verwendeten Elektrode

Tabelle 1: Systematische Beurteilung der Faktoren, die das Ergebnis beeinflussen können (Messtechnik)

Faktor	Erläuterung	kritisch? Begründung
Redoxpotenzial: Konditionierung der Redoxelektrode	Je nach Konditionierung stellt sich das Redoxpotenzial im gleichen Medium unterschiedlich konstant ein (vgl. SCHUBERT 1971 bzw. DEIBNER und MORGUES 1969)	ja Prüfen, ob Konditionierung Einfluss auf das Messergebnis in hat (vgl. Exkurs Kapitel 5)

3.2 Qualifikation des Messequipments und Erprobung eines Equipment-Standards

3.2.1 Gerätequalifikation

Die Qualifikation des Messgerätes dient der Überprüfung, ob das für eine Methode eingesetzte Messgerät eine vorgegebene Spezifikation erfüllt. Sie kann vereinfacht als “Validierung des Messgerätes ohne Analysengut” verstanden werden (KROMIDAS, 2000, 454). Die Präzision einer Methode ist insbesondere begrenzt durch die Präzision bzw. Toleranz des für die Methode eingesetzten Messgerätes. Daher kommt der Kenntnis der Gerätetoleranz als geringstmöglicher Präzision einer mit diesem Messgerät arbeitenden Methode hohe Bedeutung zu.

Die in der Folge zu überprüfende Gerätetoleranz ist angegeben in MEIER-PLOEGER et al. (2004) bzw. EQC (o.J.):

- pH = 0,03
- Redoxpotenzial = 3 mV
- spezifische Leitfähigkeit = 0,04 mS · cm⁻¹

Es handelt sich hierbei mutmaßlich um die Messwertstreuung, die der Datalogger (Messgerät) als Messwandler aufgrund der Umwandlung analoger in digitale Signale erzeugt.

Zur Verifizierung wurde die Messpräzision mit dem für die Messungen im Rahmen dieser Arbeit eingesetzten Equipment und als einer als stabil angesehenen anorganischen Prüfsubstanz bestimmt. Ziel war es, die Messtoleranz aller drei Messparameter mit einer Prüfsubstanz unter denselben Bedingungen zu untersuchen, die später bei den Messungen im Rahmen der elektrochemischen Methode zur Differenzierung von Weizenqualitäten herrschen. Festgestellt werden sollte, ob die so ermittelte Messtoleranz von Gerät und Messequipment der Gerätetoleranz entspricht.

An der als Prüfmittel eingesetzte anorganische Substanz müssen sich alle drei elektrochemischen Parameter bestimmen lassen. Handelsübliche Redox-Prüflösung war nicht geeignet. Zum einen liegt die angegebene Toleranz des Redoxpotenzials dieser Lösung mit ± 5 mV über der zu verifizierenden Gerätepräzision. Zum anderen existieren keine verbindlichen Normen für die Herstellung. Außerdem weist die Lösung mangels freier Ladungsträger keine spezifische Leitfähigkeit auf. Auch die Kalibriersubstanzen für pH-Wert und spez. Leitfähigkeit fielen aus, weil an ihnen nicht alle drei Parameter bestimmt werden können.

Als geeignet für die Ermittlung der Messpräzision wurde das Redoxsystem Eisen (II) / Eisen (III) als Chlorid befunden (in Folge "Eisenstandard"). Die Lösung dieser Salze besitzt - im Gegensatz zur Redoxprüflösung - eine spezifische Leitfähigkeit. Da Eisen(II)-Chlorid kein Neutralsalz ist, weist eine Lösung dieses Salzes einen konzentrationsabhängig von pH=7 abweichenden sauren pH-Wert auf. Demzufolge kann mit dem Eisenstandard eine Überprüfung hinsichtlich der drei elektrochemischen Parameter erfolgen.

Für die Messungen wurden FeCl_2 und FeCl_3 als Tetra- bzw. Hexahydrat der Reinheit "p.a." von Merck benutzt. Die Salze wurden im Exsikkator aufbewahrt. Von beiden Salzen wurden 0,005 molare Lösungen hergestellt. Die Lösungen wurden jeweils unmittelbar vor der Messung angesetzt.

Versuch

Die Fe(II)- bzw. Fe(III)-Lösungen wurden in 250 ml-Messkolben angesetzt. Direkt vor dem Messen wurden mit einer Multipette je 25 ml der Lösungen in 100 ml-Bechergläser (hohe Form) gegeben, die so entstandene "Mischung" mit einem Magnetfisch bestückt und auf dem auf 25°C temperierten Magnetrührer in dreifacher Wiederholung vermessen. Die Rührgeschwindigkeit betrug 400 min^{-1} . Die Messdauer war 60 s. Zwischen den Messungen wurden die Elektroden und Sensoren aus der Mischung entfernt und mit destilliertem Wasser abgespült. Es wurden drei Mischungen in dreifacher Messwiederholung pro Mischung vermessen.

Ergebnis

Tabelle 2: Deskriptive Statistik für die Messung von drei Mischungen Eisenstandard in dreifacher Messwiederholung.

Mischung		N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
1	pH	3	2,89	2,90	2,89	0,006
	Redoxpotenzial (NHE, mV)	3	735	736	735,33	0,58
	spez. Leitfähigkeit ($\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$)	3	1,90	1,93	1,9200	0,01732
2	pH	3	2,90	2,91	2,91	0,006
	Redoxpotenzial (NHE, mV)	3	735	736	735,33	0,58
	spez. Leitfähigkeit ($\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$)	3	1,85	1,89	1,8700	0,02000
3	pH	3	2,91	2,92	2,91	0,006
	Redoxpotenzial (NHE, mV)	3	735	735	735,00	0,00
	spez. Leitfähigkeit ($\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$)	3	1,85	1,87	1,8600	0,01000

Homogenität der Varianzen der drei Messparameter lag vor (LEVENE-Test, $P > 0,05$). Daher konnten die drei Aliquotmesswerte je Mischung wie Messwiederholungen zusammengefasst werden (Bildung des arithmetischen Mittelwertes). Die deskriptive Statistik nach erfolgter Zusammenfassung der Messwiederholungen stellt sich wie folgt dar:

Tabelle 3: Deskriptive Statistik Eisenstandard nach Eliminierung der Messwiederholungen.

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
pH	3	2,89	2,91	2,9044	0,01018
Redoxpotenzial (NHE, mV)	3	735	735	735,22	0,192
spez. Leitfähigkeit ($\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$)	3	1,86	1,92	1,8833	0,03215

Diskussion

Die vom Gerätehersteller (EQC) vorgegebenen Gerätetoleranz wurde durch den Versuch auch mit dem verwendeten Messequipment bestätigt. Bei allen Messparameter lag die Standardabweichungen innerhalb der vorgegebenen Gerätetoleranz. Für das eingesetzte Equipment ist daher davon auszugehen, dass die Messtoleranz allein durch die Gerätetoleranz begrenzt wird. Insofern kann die Messtoleranz mit der Gerätetoleranz gleichgesetzt werden. Die so ermittelte "verifizierte Messtoleranz" ist die bestmögliche Methodenpräzision.

Der Eisenstandard ist innerhalb der Zeitspanne, die zu einer Überprüfung der Messanordnung nötig ist, stabil.

3.2.2 Exkurs: Einfluss der Rührgeschwindigkeit auf die Messpräzision

Als möglicher Einflussfaktor auf die Präzision bei der Bestimmung elektrochemischer Parameter wurde die Rührgeschwindigkeit ausgemacht. Insbesondere könnte die Präzision bei der Messung des Redoxpotenzials zum einen dadurch beeinflusst werden, dass durch verstärktes Rühren Sauerstoff in die Messlösung eingebracht wird (MEIER-PLOEGER et al., 2004). Zum anderen soll die Anströmgeschwindigkeit des Messmediums an die Elektrode einen Einfluss haben (KORDATZKI, 1935).

Versuch

Um den Einfluss zu untersuchen wurden wiederum je drei Mischungen des Eisenstandards in dreifacher Messwiederholung gemessen und hierbei die Rührgeschwindigkeit schrittweise verändert. Die Messungen erfolgten mit den Rührgeschwindigkeiten: 0 min⁻¹ (erste Messwiederholung), 400 min⁻¹ (zweite Messwiederholung) und 1200 min⁻¹ (dritte Messwiederholung). Messdauer und Elektrodenbehandlung erfolgten wie im vorhergehenden Abschnitt beschreiben.

Ergebniss

Tabelle 4: Deskriptive Statistik für N=3 Mischungen je Rührgeschwindigkeit.

Rührgeschwindigkeit		N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
ohne Rühren	pH	3	2,93	2,94	2,9333	< 0,03
	Redoxpotenzial (NHE, mV)	3	735	735	735	< 3
	spez. Leitfähigkeit (mS·cm ⁻¹)	3	1,87	1,90	1,8833	< 0,04
400 min ⁻¹	pH	3	2,93	2,95	2,9400	< 0,03
	Redoxpotenzial (NHE, mV)	3	734	735	734	< 3
	spez. Leitfähigkeit (mS·cm ⁻¹)	3	1,87	1,91	1,8867	< 0,04
1200 min ⁻¹	pH	3	2,92	2,94	2,9333	< 0,03
	Redoxpotenzial (NHE, mV)	3	734	735	734	< 3
	spez. Leitfähigkeit (mS·cm ⁻¹)	3	1,87	1,97	1,9100	< 0,04

Diskussion

Die Unterschiede der Mittelwerte aller gemessenen Parameter zwischen den Rührgeschwindigkeiten liegen innerhalb der Messtoleranz. Die Rührgeschwindigkeit hat beim Eisenstandard keinen Einfluss auf das Messergebnis.

3.2.3 Validierung des Eisenstandards als Prüfmittel für das Messequipment

3.2.3.1 Systematische Beurteilung möglicher Einflussfaktoren

Tabelle 5: Systematische Beurteilung der Einflussfaktoren (Eisenstandard)

Einflussfaktor	Erläuterung	kritisch?
Stabilität der Grundstoffe (Chemikalien)	Die eingesetzten Reagenzien könnten einer Alterung unterliegen	nein Die Salze liegen in Trockenform vor. In der Literatur wurden keine Hinweise gefunden, die auf eine Zersetzung der Chemikalien hindeuten.
Alterung der Lösung	Die angesetzte Lösung könnte einer Alterung unterliegen	nein Methodisch ist festgelegt, dass die Lösungen stets frisch anzusetzen sind. Für die übliche Dauer einer Überprüfung ist die Stabilität gegeben (vgl. 3.2.1)
Fehler durch manuelles Ansetzen der Lösungen	Beim Ansetzen der Lösungen könnten Fehler bei der Dosierung der Bestandteile auftreten	ja Überprüfung im Rahmen der Validierung

3.2.3.2 Robustheit: Manueller Ansatz

Einziges im Rahmen der Validierung zu testender Einflussfaktor ist der Einfluss des manuellen Ansetzens.

Versuch

Zur Bestimmung wurde sechs mal der Eisenstandard in 100 ml Messkolben angesetzt und je drei Misch-Aliquote je Kolben gemessen:

Ergebnis

Tabelle 6: Deskriptive Statistik. sechsmaliger Ansatz des Eisenstandards

	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
pH	6	2,87	2,92	2,8950	< 0,03
Redoxpotenzial (NHE, mV)	6	734	735	735	< 3
spez. Leitfähigkeit (mS·cm ⁻¹)	6	1,89	1,94	1,9111	< 0,04

Diskussion

Die ermittelte Präzision bei sechsmaliger Wiederholung des manuellen Ansatzes liegt innerhalb der verifizierten Messtoleranz. Das Verfahren ist hinsichtlich des manuellen Ansetzens des Eisenstandards robust.

3.2.3.3 Präzision unter Wiederholbedingungen: Mehrere Ansätze und Messtage

Die Daten aus den Experimenten zur Bestimmung der verifizierten Messtoleranz, dem Einfluss der Rührgeschwindigkeit und des manuellen Ansatzes wurden an verschiedenen Tagen erhoben. Es wurde gezeigt, dass die untersuchten Einflussfaktoren beim jeweiligen Experiment keinen Einfluss auf das Messergebnis hatten. Da nur Faktoren ohne Einfluss variiert wurden können die Daten zur Bestimmung der Präzision unter Wiederholbedingungen herangezogen werden.

Ergebnis

Tabelle 7: Deskriptive Statistik. Wiederholpräzision Eisenstandard an zwei Messtagen.

Quelle (Messtag)		N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
Gerätequalifikation (1)	pH	3	2,89	2,91	2,9044	< 0,03
	Redoxpotenzial (NHE, mV)	3	735	735	735,22	< 3
	spez. Leitfähigkeit ($\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$)	3	1,86	1,92	1,8833	< 0,04
Rührgeschwindigkeit (2)	pH	9	2,92	2,95	2,9356	< 0,03
	Redoxpotenzial (NHE, mV)	9	734	735	735,56	< 3
	spez. Leitfähigkeit ($\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$)	9	1,87	1,97	1,89	< 0,04
manueller Ansatz (2)	pH	6	2,87	2,92	2,8950	< 0,03
	Redoxpotenzial (NHE, mV)	6	734	735	735	< 3
	spez. Leitfähigkeit ($\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$)	6	1,89	1,94	1,9111	< 0,04
Gesamt	pH	18	2,87	2,95	2,9169	< 0,03
	Redoxpotenzial (NHE, mV)	18	734	735	735,35	< 3
	spez. Leitfähigkeit ($\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$)	18	1,86	1,97	1,8976	< 0,04

Diskussion:

Die Präzision unter Wiederholbedingungen an mehreren Messtagen und mit mehreren Ansätzen lag innerhalb der verifizierten Messtoleranz. Der Eisenstandard ist als Instrument für die Kontrolle der Messanordnung geeignet.

3.3 Methodenentwicklung

3.3.1 Stand der Methode bei Projektbeginn

Eine ausgearbeitete Methode für die Differenzierung von Weizenproben als Samen mit elektrochemischen Parametern war in der Literatur nicht vorhanden. Da jedoch im Labor bereits Untersuchungen an Weizen mit der Kupferkristallisationsmethode durchgeführt wurden, lag es nahe, die Probenvorbereitung dieser bereits etablierten Methode zu nutzen und für die elektrochemischen Messungen zu modifizieren.

3.3.2 Dokumentation der Entwicklungsschritte

Ausgangspunkt für die Entwicklung der Methode war die bereits beschriebene Gerätequalifizierung. Die Methodenpräzision aller elektrochemischen Parameter soll bei der fertig entwickelten Methode möglichst der verifizierten Messtoleranz (vgl 3.2.1) als geringstmöglicher Präzision der Methode entsprechen. Die verifizierte Messtoleranz ist allein von den Eigenschaften des Messwandlers abhängig. Daher ist es technisch unmöglich eine bessere Präzision zu erreichen. Die verifizierte Messtoleranz ist somit die bestmögliche Präzision, die bei dem eingesetzten Messwandler mit der Methode erreichbar ist.

Zu Beginn der Entwicklung wurden Messungen an Extrakten durchgeführt, die nach der Methode für die Kupferchloridkristallisation hergestellt wurden. Die Parameter pH-Wert und spezifische Leitfähigkeit waren gut reproduzierbar. Dagegen waren die Redoxpotenziale kaum reproduzierbar. Als eine theoretische denkbare Ursache hierfür wurden große Unterschiede der Filtrationszeiten ermittelt, wodurch der perkolierende Extrakt in unterschiedlicher Weise der oxidierenden Wirkung der Luft ausgesetzt ist. Dafür spricht, dass SCHUBERT in seiner Methode zur Redoxmessung an gemußten Äpfeln eine Begasung mit Stickstoff während der Messung vorsieht, um die Oxidation zu minimieren (SCHUBERT 1971). Eine Begasung des Extraktes mit Stickstoff während Extraktion und Messung schien aus verfahrenstechnischen Gründen unzumutbar. Daher wurden die Extraktions- und Absetzzeit verändert und ein weiches Filter benutzt. Hiermit konnten die Gleichmäßigkeit der Filtrations- und Stehzeiten sichergestellt werden.

Beim Mahlen des Kornes fiel ein Geruch des frischen Schrotens auf, der sich nach zwei bis drei Stunden verflüchtigte. Daher wurde angenommen, dass durch das Mahlen Vorgänge im Probengut in Gang gesetzt werden, die zu chemischen Umsetzungen oder Freisetzungen flüchtiger Bestandteile führen. Um sicherzustellen, dass ein unterschiedlicher Verlauf dieser Prozesse keinen Einfluss auf das Messergebnis hat, wurde in der Methode eine Standzeit des

Schrotes von etwa 24 Stunden nach dem Mahlen vorgesehen. Eine kürzere Standzeit erschien aus Gründen des Arbeitsablaufes nicht zweckmäßig. Insbesondere ist es durch die eingeführte Standzeit des Schrotes möglich, mehrere Proben nacheinander zu mahlen. Diese zeitliche Trennung von Mahl- und Extraktionsvorgang hat außerdem erfahrungsgemäß die Methode deutlich komfortabler in ihrer praktischen Anwendung gemacht.

In einem weiteren Entwicklungsschritt wurde festgestellt, wie sich die Parameter im Zeitverlauf der Messung verändern. Hierbei zeigte sich, dass für pH-Wert und Leitfähigkeit ein stabiler Messwert innerhalb einer Minute Messzeit erreicht wird. Die Werte der drei vermessenen Aliquote unterscheiden sich nicht. Sinnvoll ist daher die Zusammenfassung der Aliquotmesswerte, die insofern wie Messwiederholungen behandelt werden. Voraussetzung hierfür ist eine Homogenität der Varianzen (SCHÄFER 2003). Diese kann aufgrund der nur im Bereich der Messtoleranz voneinander abweichenden Aliquotmesswerte als gegeben betrachtet werden.

Für das Redoxpotenzial ist eine Unterscheidung nach der Nummer des Extraktaliquots zu treffen. Wie in Abbildung 5 zu ersehen ist beim ersten Extraktaliquot ist anfangs ein kubischer und dann ein quasi linearer Verlauf der Messkurve zu verzeichnen. Der lineare Abschnitt beginnt bei etwa 120 s - 300 s. Beim zweiten und dritten Aliquot verläuft die Messkurve linear. Die Unterschiede der Messkurven für das erste und die weiteren Aliquote resultieren aus der Anpassung der Elektrode an das Messmedium beim ersten Messvorgang in einem neuen Medium. Aufgrund der Unterschiede zwischen den Messkurven ist es nicht möglich, die Aliquotmesswerte als Messwiederholungen eines Extraktes zu betrachten. Vielmehr sollte jeder Aliquotmesswert für sich zu betrachtet werden (SCHÄFER 2003).

Weitere Experimente haben gezeigt, dass eine Asymptote auch bei Messzeiten über 700 s nicht erreicht wird. Auch bleibt die Steigung des linearer Kurvenabschnitts der Messkurve zwischen 300 und 700 s nahezu gleich. Die Messdauer wurde daher für Weizen auf 360 s festgelegt. Innerhalb dieser Zeit ist bei Einsatz eines auf 25 °C temperierten Wasserbades erfahrungsgemäß auch die Erwärmung der Probe auf diese Temperatur sichergestellt.

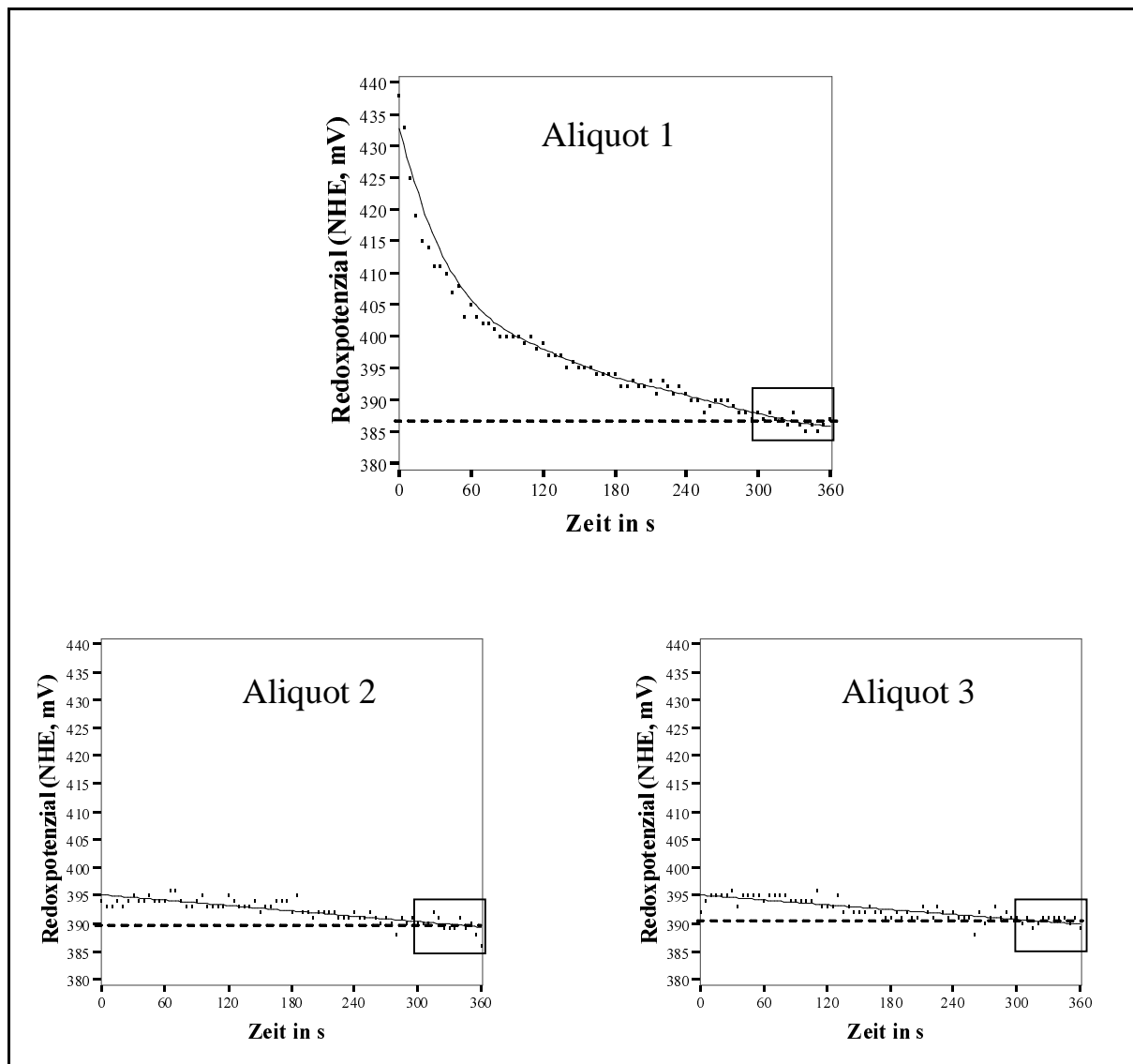


Abbildung 5: Messkurven und Einzelmesspunkte der drei Aliquote eines Weizenextraktes. Die Messkurven sind eine Kurvenanpassung dritten Grades (Aliquot 1) bzw. lineare Regression (Aliquote 2 und 3) an die Einzelmesspunkte. Dargestellt ist weiterhin die ROI (Rahmen zwischen 300 und 360 s Messzeit) und der Aliquotmesswert (gestrichelte Linie senkrecht zur y-Achse).

Festgelegt wurde weiterhin, dass zur Beschreibung eines Aliquots die Einzelmesswerte der jeweiligen Parameter (pH, Redoxpotenzial und spez. Leitfähigkeit) in den letzten 60 s der Messung herangezogen werden, also der Messzeitraum zwischen 300 und 360 s (Region of Interest = ROI). Die Berechnung des Aliquotmesswerts erfolgt demzufolge bei einem Logger-Intervall von 5 s aus 13 Einzelmesswerten je Aliquot und Parameter (vgl. Abbildung 6). Es wird angenommen, dass der herangezogene Median der Messwerte in der ROI die gemessene Probe ausreichend beschreibt. Der Median als verteilungsabhängiges deskriptives Merkmal beschreibt die ROI besser als der verteilungsunabhängige Mittelwert. Dies gilt besonders für das Redoxpotenzial, bei dem wie beschrieben sich kein Konstantwert einstellt. Hier enthält der Median auch Informationen zur Steigung des ausgewerteten linearen Bereiches der Messkurve.

Außerdem ist der Median gegen mögliche Ausreißer robuster.

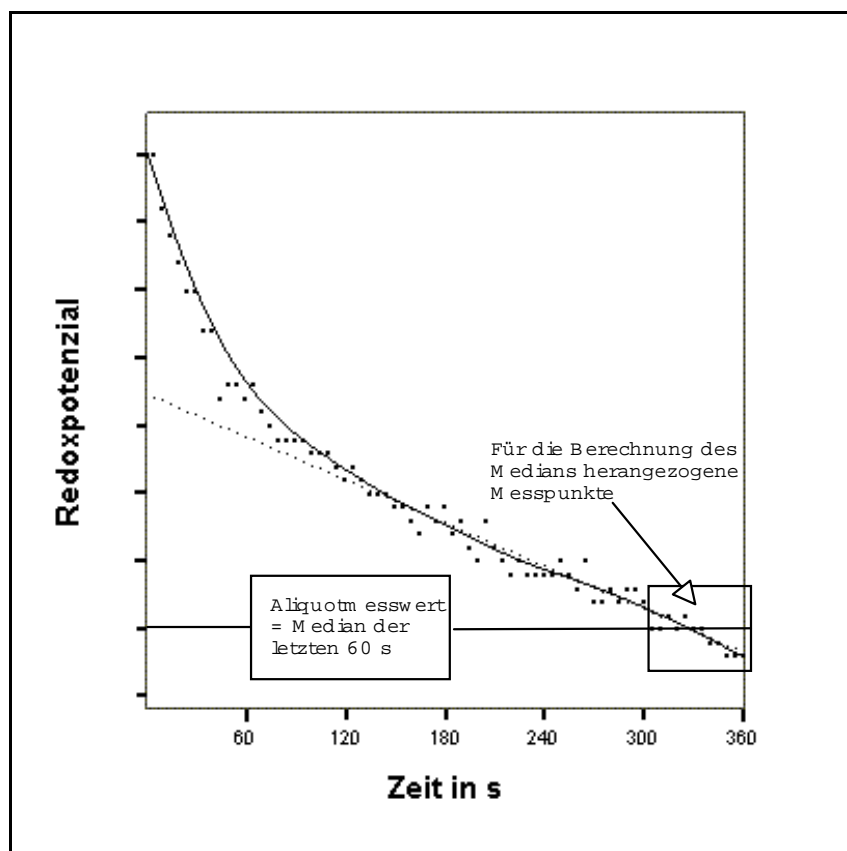


Abbildung 6: Ableitung des Aliquotmesswertes aus einer Messkurve (hier exemplarisch die Redoxmesskurve eines ersten Aliquots). Die ROI ist durch das Rechteck gegeben, das sich von 300 bis 360 s erstreckt (letzte 60 s). Der Aliquotmesswert als Median der Einzelmesswerte in der ROI ist gegen die y-Achse abgetragen. Außerdem ist durch die gepunktete Linie der lineare Verlauf der Einzelmesswerte gekennzeichnet.

Bei der Erprobung der Methode an Weizenproben des DOK-Versuches 2002 zeigte sich, dass die Bezugselektrode der Redox-Einstabmesskette (Meinsberg EMC 30) nicht für die gemessenen feststoffhaltigen Medien geeignet war. Das verwendete Keramikdiaphragma verursachte - offenbar aufgrund von Verschmutzungen - nicht reproduzierbare Potenziale der Bezugselektrode. Hinsichtlich der nicht zu reproduzierenden Redoxpotenziale bei den Extrakten nach der Kupferchloridmethode dürfte sich dieser Effekt mit den anderen, durch theoretische Analysen erhobenen, Fehlerquellen überlagert bzw. kumuliert haben.

Es wurde nach einer besser geeigneten Redox-Einstabmesskette gesucht. Mit der schließlich für die Validierung benutzten Hamilton Polilyte Rx120 stand schließlich eine solche zur Verfügung. Diese Messkette nutzt das Singlepore[®]-System, welches gegen Verschmutzungen aus der Probenflüssigkeit unempfindlich ist, als Salzbrücke. Außerdem weist das Referenzsystem

(EVEREF®) ein konstanteres Potenzial auf als vergleichbare Referenzsysteme. Die Messelektrode ist als blanker Platindraht ausgebildet, welcher um den Glasschaft gewickelt ist.

Als letzter Schritt der Vorversuche wurde die soweit entwickelte Methode dokumentiert (siehe Anhang 8.2). Diese Methode war Grundlage für die Validierung.

3.4 Validierung

3.4.1 Validierungsfrage

In dieser Arbeit soll geprüft werden, ob die in Anhang 8.2 dokumentierte elektrochemische Methode für die Trennung und Gruppierung von Weizenproben aus unterschiedlichen Anbaubedingungen geeignet ist. Das Projekt dient der Validierung der gesamten Methode mit Ausnahme von Probennahme und -lagerung, d.h. allen Methodenschritten von der Probenaufbereitung bis zur Auswertung. Damit lässt sich die folgende Validierungsfrage definieren:

Ist die "Elektrochemische Methode zur Differenzierung von Weizenproben" zur Differenzierung von Proben der unterschiedlichen Anbauverfahren des DOK-Versuches geeignet?

Dabei soll das Verfahren für die Beantwortung der Frage ausreichend präzise arbeiten.

Bei der Methode kann die Richtigkeit nicht überprüft werden, da keine Referenzmaterialien existieren. Da es sich beim Redoxpotenzial um einen nicht metrischen Parameter handelt, ist es nicht sinnvoll Variationskoeffizienten (V_k) zu berechnen. Variationskoeffizienten wurden auch für die anderen Parameter nicht berechnet. Vielmehr erfolgt ein Vergleich der ermittelten Präzision mit der in der Gerätequalifizierung verifizierten Messtoleranz.

3.4.2 Charakterisierung der Methode

3.4.2.1 Kalibrierung

3.4.2.1.1 pH-Wert

Für den pH-Wert werden nach entsprechenden DIN-Vorschriften hergestellte Referenzmaterialien zur Kalibrierung benutzt. Diese sind mit einer Toleranz von $\text{pH} = 0,015$ (DIN 19266 : 2000) angegeben. Die Präzision der Referenzsubstanzen liegt damit unter der Messtoleranz.

3.4.2.1.2 Spezifische Leitfähigkeit

Für die Kalibrierung der spezifischen Leitfähigkeit existieren keine nationalen und internationalen Normen. Allgemein anerkannt ist jedoch die Kalibrierung mit KCl-Lösungen für die die richtigen Werte empirisch ermittelt wurden (EGGERT 1968, S. 598).

Als Toleranz für die Überprüfung der Messanordnung wurde daher die verifizierte Messtoleranz angegeben.

3.4.2.1.3 Redoxpotenzial

3.4.2.1.3.1 Anorganische Prüfmittel

Für das Redoxpotenzial ist eine genormte und zertifizierte Kalibriersubstanz nicht verfügbar. Für die als "Redox-Prüflösung" angebotene Substanz, eine wässrige Lösung von Kaliumhexazyanoferat(III), wird von den Herstellern eine Toleranz von ± 5 mV angegeben. Zur Herstellung dieser Prüfsubstanz existieren keine verbindlichen Normen. Die Toleranz ist des Prüfmittels ist höher als die verifizierte Messtoleranz. Bei Abweichungen des gemessenen vom Sollwert des Prüfmittels kann daher nicht festgestellt werden, ob diese auf die Messanordnung oder die Prüfsubstanz zurückzuführen ist.

Besser als die "Redox-Prüflösung" geeignet ist die bei der Ermittlung der Messpräzision benutzte Lösung von Eisen (II)- und Eisen(III)-Chlorid (Eisenstandard). Es wurde nachgewiesen, dass sich diese mit den benutzten Chemikalien definiert hergestellt werden kann. Ihr Messwert stellt sich präzise und schnell ein. Eine synthetische Kalibriersubstanz bietet die Gewähr, dass bei definierter Herstellung mit Materialien bekannter Reinheit ein richtiger Wert angegeben werden kann. Schwankungen der Messwerte der Messanordnung wären folglich allen auf die Messanordnung zurückzuführen.

3.4.2.1.3.2 Biologische Prüfmittel - Wein

Wie bereits begründet verhalten sich anorganische Einkomponentensysteme, wie die Redox-Prüflösung oder der Eisenstandard, an der Messelektrode anders als die zu vermessenden biologischen Medien.

Die von STALLER vorgeschlagene Methode, Wein zur Überprüfung der Messanordnung zu verwenden, bietet den Vorteil, ein biologisches Medium anzuwenden (MEIER-PLOEGER et al. 2004). Fraglich ist hier, ob Schwankungen der Messwerte durch das Messmedium oder durch die Messanordnung verursacht werden. Die Eignung von Wein als Prüfmittel wird detailliert im Rahmen einer vergleichenden Betrachtung zweier Redoxmesselektroden beurteilt (vgl. Abschnitt 5). Obwohl eine abschließende Beurteilung nicht möglich war, erschien der Wein schon aus methodischen und Kostengründen als nur bedingt als Prüfmittel geeignet.

Zudem erscheint fraglich, ob sich nicht auch unterschiedliche biologische Medien an der Redoxelektrode unterschiedlich verhalten. Darauf weisen die unterschiedlichen Korrelationen der mit Gold- und Platinelektroden gemessenen Redoxpotenziale je nach untersuchtem Messmedium hin (vgl. KRAUTGARTNER 2001).

3.4.2.1.3.3 Mitlaufender Methodenstandard

Vom Autor wurde der Versuch unternommen, homogenes Weizenschrot als mitlaufenden Standard zu verwenden. Dieses liefert ausreichend reproduzierbare Messwerte (vgl. 3.4.2.2.4). Hier ist vor allem von Nachteil, dass für die Aufbereitung und Messung des Standards ebensoviel Zeit nötig ist, wie für die Messung der Proben. Hier ergibt sich also ein zeitökonomisches Problem. Zu klären ist, wie viele unabhängige Probenvorbereitungen und Messungen des Standards als Minimum für eine ausreichende Sicherheit zu messen sind. Die Eignung des Standards bleibt noch ausführlich zu untersuchen.

3.4.2.1.3.4 Zusammenfassung

Für die Kalibrierung bzw. Überprüfung des Redoxpotenzials im Zusammenhang mit elektrochemischen Messungen an Weizen konnte noch keine befriedigende Lösung gefunden werden. Der Eisenstandard erscheint als das derzeit bestverfügbare Prüfmittel.

3.4.2.2 Systematische Beurteilung von Faktoren, die Einfluss auf das Ergebnis haben könnten (Methode)

3.4.2.2.1 Überblick

Tabelle 8: Systematische Beurteilung von Faktoren, die Einfluss auf das Ergebnis haben könnten

Einflussgröße	Erläuterung	kritisch? ggf. Begründung
Probenmenge einer Teilprobe	Ist sichergestellt, dass die für eine Teilprobe eingewogene Menge die Probe repräsentiert?	ja
Alter des Schrotes	Hat das Alter des Schrotes (Zeit vom Mahlen bis zum Beginn der Extraktion) Einfluss auf das Messergebnis?	ja
Mahlvorgang	Sind Schrote einer Probe aus verschiedenen Mahlungen einer Mühle miteinander vergleichbar?	ja
Extraktions- und Absetzzeit	Einfluss der Extraktions- und Absetzzeit auf das Messergebnis?	ja Zeiten sind in der Methode festgelegt und mit Stoppuhr zu kontrollieren Prüfung als Methodenpräzision
Korngrößenverteilung / Schichtung im Extrakt vor Filtration	Beim Absetzen nach der Schüttelextraktion könnte sich eine Schichtung im Extrakt dadurch bilden, dass die verschiedenen Korngrößen des Schrotes unterschiedlich schnell absinken	ja Methodisch kompensiert. In der Methode wurde festgelegt, wie viel Extrakt zum Filtern verwendet wird und in welcher Weise dieser zu entnehmen ist. Auch ist festgelegt, wie viel Filtrat aufzufangen ist. Prüfung als Methodenpräzision
Filtration	Hat die Filtrationszeit Einfluss auf das Messergebnis?	ja Filtrationszeit ist mit verwendetem Filter in sehr engem Bereich konstant (sh. Vorversuche) Prüfung als Methodenpräzision

Tabelle 8: Systematische Beurteilung von Faktoren, die Einfluss auf das Ergebnis haben könnten

Einflussgröße	Erläuterung	kritisch? ggf. Begründung
Alterung des Extraktes / Stabilität der Lösung	Hat die Alterung des Extraktes während der Dauer der Messung der drei Extraktaliquote Einfluss auf das Messergebnis?	nein Aus Vorversuchen ist bekannt, dass für pH-Wert und Leitfähigkeit die Aliquotmesswerte nur im Bereich der Messtoleranz schwanken. Hier ist also keine Alterung zu verzeichnen. Beim Redoxpotenzial werden die drei Aliquotmesswerte jeder für sich betrachtet. Außerdem ist die Zeit vom Ansatz des Extraktes bis zur ersten Messung methodisch festgelegt. Ebenso werden die zweiten und dritten Aliquote durch die festgelegte Messdauer im definierten Zeittakt gemessen. Ein Einfluss kann daher ausgeschlossen werden.
Einfluss des Messequipments	Hat eine Variation der Messeinrichtungen (Rührgeschwindigkeit, Temperatur, Elektroden etc.) Einfluss auf das Messergebnis?	ja In der Methode sind die flankierende Parameter präzise festgelegt. Prüfung als Methodenpräzision.

3.4.2.2 Probenmenge einer Teilprobe

Prämisse

Die verwendete Mühle fasst maximal 250 g Probengut pro Mahlgang. Als Minimum wurde die Mahlung für eine Doppelbestimmung, also 110 g, angesehen.

Versuch

Um den Einfluss der Einwaage zu untersuchen, wurden insgesamt 8 Extrakte aus vier Mahlungen zu 110 g bzw. 210 g Probeneinwaage nach der dokumentierten Methode extrahiert und hierfür die elektrochemischen Parameter bestimmt. Für die Messungen wurde Alnatura-Weizen verwendet.

Ergebnis

Tabelle 9: Deskriptive Statistik für zwei verschiedene Probeneinwaagen zur Mahlung

Einwaage zur Mahlung		N	Standard-abweichung
110 g	pH	8	< 0,03
	Redoxpotenzial A1 (NHE, mV)	8	4,72
	Redoxpotenzial A2 (NHE, mV)	8	5,42
	Redoxpotenzial A3 (NHE, mV)	8	6,45
	spez. Leitfähigkeit (mS·cm ⁻¹)	8	< 0,04
210 g	pH	8	< 0,03
	Redoxpotenzial A1 (NHE, mV)	8	3,85
	Redoxpotenzial A2 (NHE, mV)	8	< 3
	Redoxpotenzial A3 (NHE, mV)	8	< 3
	spez. Leitfähigkeit (mS·cm ⁻¹)	8	< 0,04

Diskussion

Für den pH-Wert und die spezifische Leitfähigkeit spielt die als Teilprobe eingewogene Menge keine Rolle. Bei beiden Einwaagen ist eine innerhalb der Messtoleranz liegende Standardabweichung der Messwerte zu verzeichnen.

Dagegen zeigt sich beim Redoxpotenzial eine bessere Präzision bei der höheren Probeneinwaage. Diese liegt für die Aliquote 2 und 3 im Bereich der Messtoleranz. Die Probeneinwaage für eine Teilprobe ist daher auf 210 g festzulegen (siehe Methodenvorschrift). Worin die Ursache für diesen Effekt liegt ist unklar zumal bereits etwa 70 g Weizen dem als repräsentativ angesehenen Tausendkorngewicht entsprechen.

3.4.2.2.3 Alter des Schrotes

Versuch

In einem Experiment wurde Mehl eines Alters von 24, 48, 72 und 128 Stunden elektrochemisch untersucht. Hierzu wurde 1 kg Alnatura-Weizen in 5 Mahlgängen vermahlen, anschließend die gesamte Menge homogenisiert und in Portionen zu je 110 g bei Labortemperatur bis zur Messung gelagert. Pro Lagerdauer wurden 4 Extrakte aus zwei Portionen vermessen.

Ergebniss

Die elektrochemischen Parameter je Lagerdauer unterschieden sich nicht (ANOVA, $P > 0,05$).

Diskussion

Damit ist nachgewiesen, dass das Schrot innerhalb der methodisch festgelegten Toleranz von 24 Stunden (Standzeit 24 h bis 48 h) und darüber hinaus bis 128 Stunden stabil ist.

3.4.2.2.4 Mahlvorgang

Versuch

Um den Mahlschritt aus der Methode zu eliminieren wurden ein fertig gemahlene Weizenschrot mit der dokumentierten Methode untersucht. Die Körnung des Probengutes entsprach in etwa der, wie sie die Labormühle herstellt. Es wurde daher angenommen, dass das fertig gemahlene Weizenschrot mit dem Mahlprodukt der Labormühle vergleichbar ist.

Für den Versuch wurden sechs Schrot-Aliquote des fertig gemahlene L-Weizenschrotes von je ca. 210 g dem Vorratsgefäß entnommen. Die Aufbewahrung der Aliquote bis zur Messung erfolgte analog der dokumentierten Methode. Es wurden insgesamt 10 Extrakte an zwei Messtagen nach der dokumentierten Methode gemessen. Die am zweiten Messtag vermessenen Schrot-Aliquot wurden bis zur Messung dunkelstehend und bei Labortemperatur aufbewahrt (Laborschrank).

Ergebnis

Tabelle 10: Deskriptive Statistik für die Vermessung von Weizenschrot an zwei Terminen.

Messtag		n	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
1	pH	5	6,45	6,47	6,4560	< 0,03
	Redoxpotenzial A1 (NHE, mV)	5	391	402	397,8	4,20
	Redoxpotenzial A2 (NHE, mV)	5	394	402	399,0	3,00
	Redoxpotenzial A3 (NHE, mV)	5	395	403	398,6	3,21
	spez. Leitfähigkeit (mS·cm ⁻¹)	5	0,61	0,64	0,6260	< 0,04
2	pH	5	6,43	6,48	6,4680	< 0,03
	Redoxpotenzial A1 (NHE, mV)	5	396	403	399,2	< 3
	Redoxpotenzial A2 (NHE, mV)	5	398	402	400,0	< 3
	Redoxpotenzial A3 (NHE, mV)	5	394	400	397,6	< 3
	spez. Leitfähigkeit (mS·cm ⁻¹)	5	0,64	0,68	0,6620	< 0,04

Diskussion

Die Standardabweichung der Parameter liegt überwiegend innerhalb der Messtoleranz. Die über der Messtoleranz liegende Standardabweichung des Redoxpotenzials A1 am ersten Messtag könnte durch einen Ausreißer verursacht sein. Die Präzision der Redoxpotenziale A2 und A3 weicht am 1. Messtag nur unwesentlich (< 10 %) von der Messtoleranz ab.

Vergleicht man die Präzision beim Vermessen des fertig gemahlene Schrot mit der Präzision für mehrere Mahlungen ausreichend homogener Teilproben (vgl. 3.4.2.2.2) wird ersichtlich, dass die Präzision bei der Messung einer großen homogenen Grundmenge (fertig gemahlene Schrot) vergleichbar ist mit der mehrerer Probeneinwaagen von 210 g bei vierfacher Wiederholung. Zudem unterscheiden sich die mit vier Mahlungen ermittelten Messwerte nicht voneinander (vgl. Tabelle 9; ANOVA $P > 0,05$). Damit ist nachgewiesen, dass mehrere Mahlungen einer Probe vergleichbar sind.

3.4.2.3 Ermittlung der Wiederholpräzision und Verfahrensstabilität

Die Messpräzision ist ein Maß für Schwankungen, die durch das Analysengerät verursacht werden. Zur Ermittlung wird eine stabile, homogene Probe sechsfach gemessen. Durch das in Abschnitt 3.3.2 geschilderte unterschiedliche Messverhalten der Aliquote beim Redoxpotenzial ist es nach Ansicht des Autors unmöglich eine Messpräzision des Redoxpotenzials für Weizenextrakte zu bestimmen. Aus diesem Grund wurde auf die Bestimmung einer Messpräzision insgesamt verzichtet.

Als Methoden- bzw. Wiederholpräzision wird unter Wiederholbedingungen (eine homogene Probe, ein Prüfer, ein Gerät usw.) und in kurzen Zeitabständen bestimmt. Sie ist ein Maß für Schwankungen, die durch alle Schritte der Methode verursacht werden (KROMIDAS 2000, 44 und 51). Die Verfahrensstabilität gibt die Stabilität der Ergebnisse für die Dauer einer Analysenserie an (KROMIDAS 2000, 44). Als Dauer einer Analysenserie wurden hier vier Tage angenommen.

Versuch

Entsprechend der dokumentierten Methode wurden an zwei Messtagen Alnatura-Weizen vermessen. Hierzu wurden pro Messtag zwei Portionen Weizen á 210 g benutzt. Hieraus wurden je drei Extrakte vermessen. Am zweiten Messtag fiel ein Extraktmesswert aus.

Ergebnis

Tabelle 11: Messpräzision unter Vergleichsbedingungen an zwei Tagen.

Messtag		N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standard- abweichung
1	pH	6	6,61	6,63	6,6225	< 0,03
	Redoxpotenzial A1 (NHE, mV)	6	365	375	369	4,00
	Redoxpotenzial A2 (NHE, mV)	6	356	363	359,83	< 3
	Redoxpotenzial A3 (NHE, mV)	6	351	357	354,33	= 3
	spez. Leitfähigkeit (mS·cm ⁻¹)	6	0,96	0,99	0,9736	< 0,04
2	pH	5	6,61	6,62	6,6163	< 0,03
	Redoxpotenzial A1 (NHE, mV)	5	362	368	365	= 3
	Redoxpotenzial A2 (NHE, mV)	5	356	357	356,6	< 3
	Redoxpotenzial A3 (NHE, mV)	5	350	355	353,6	< 3
	spez. Leitfähigkeit (mS·cm ⁻¹)	5	0,97	0,99	0,9787	< 0,04
Gesamt	pH	11	6,61	6,63	6,6197	< 0,03
	Redoxpotenzial A1 (NHE, mV)	11	362	375	367,2	4,00
	Redoxpotenzial A2 (NHE, mV)	11	356	363	358,36	< 3
	Redoxpotenzial A3 (NHE, mV)	11	350	357	354	< 3
	spez. Leitfähigkeit (mS·cm ⁻¹)	11	0,96	0,99	0,9759	< 0,04

Diskussion

a) Methoden bzw. Wiederholpräzision

Die Messergebnisse und Standardabweichungen der Messwerte an den beiden Messtagen sind vergleichbar. Sie liegen - mit Ausnahme des Parameters Redoxpotenzial A1 - innerhalb der Messtoleranz. Die Wiederholpräzision ist damit durch die Messtoleranz gegeben. Abweichend hiervon ist die Wiederholpräzision für den Parameter Redoxpotenzial A1 durch die ermittelte Standardabweichung (4 mV) gegeben.

Aus diesem Ergebnis kann man schlussfolgern, dass die Messpräzision als Teil der Methodenpräzision - außer für den Parameter Redoxpotenzial A1 - ebenfalls unterhalb der Gerätetoleranz liegt.

b) Verfahrensstabilität

Die Methode liefert an den beiden Messtagen vergleichbare Ergebnisse. Die Extraktmesswerte unterscheiden sich zwischen den Messtagen nicht (ANOVA, $P > 0,05$). Das Verfahren ist für die angenommene Dauer einer Analysenserie von 4 Tagen stabil.

3.4.2.4 Methodenpräzision unter Vergleichsbedingungen

Die Ermittlung der Messpräzision unter Vergleichsbedingungen hätte eine Zweitausstattung mit dem Messequipment erfordert, die nicht vorhanden war. Auch stand keine zweite Person zur Verfügung, die mit der Messmethode ausreichend vertraut war. Der Kooperationspartner EQC verfügte nicht über das in der Methode vorgesehene Laborequipment, somit war kein Ringversuch möglich.

3.4.2.5 Ergebnisunsicherheit der Methode

Durch die Vorversuche und die Validierung wurde nachgewiesen, dass bei homogener Ausgangsprobe die Ergebnisunsicherheit weitgehend durch die Messunsicherheit des Messgerätes (Messtoleranz) bestimmt wird. Damit ist der Grund für die Ergebnisunsicherheit allein im Messverfahren zu suchen. Die Probenvorbereitungsschritte bis zur Messung liefern einen untergeordneten Beitrag zur Ergebnisunsicherheit.

Ein Maß für die Ergebnisunsicherheit ist die Standardunsicherheit u_{st} . Sie berechnet sich aus der Standardabweichung der Messparameter unter Vergleichsbedingungen (vgl. 4.4.3.4) und dem methodisch festgelegten Stichprobenumfang pro Probe (hier: $N = 8$ Extrakte). Hieraus kann die erweiterte Ergebnisunsicherheit u abgeleitet werden. Sie stellt einen Vertrauensbereich dar, der mit der Wahrscheinlichkeit α (hier 95 %) den wahren Wert enthält (vgl. KROMIDAS 2000, 90 ff.).

Die Ergebnisunsicherheit als Charakterisierungsmerkmal der Methode für Weizen ist in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

Tabelle 12: Ergebnisunsicherheit der Methode für Weizen

Parameter	Ergebnisunsicherheit ($N = 8$ und $\alpha=95\%$)
pH	0,0273
Redoxpotenzial A1 (NHE)	3,64 mV
Redoxpotenzial A2 (NHE)	2,72 mV
Redoxpotenzial A3 (NHE)	2,72 mV
spezifische Leitfähigkeit	0,0364 mS cm ⁻¹

4 Vergleichsmessungen

4.1 Weizenproben DOK-Versuch, Ernte 2003

4.1.1 Versuchsdesign

Untersucht wurden die Proben des DOK-Vergleichsversuches, Messung Herbst 2003 (vgl. Anhang 8.1, Unterabschnitt 3.2). Die fünf codiert und als Bulk-Probe (Mischung der Feldwiederholungsproben) angelieferten Weizenproben (Varianten) wurden manuell gereinigt. Es waren nur geringe Verunreinigungen vorhanden. Die Messungen erstreckten sich über vier Messtage. Pro Messtag wurden zwei oder drei Varianten vermessen. Die Messreihenfolge ergibt sich aus der folgenden Tabelle:

Tabelle 13: Messreihenfolge für die Weizenqualitäten des Vergleichsversuches DOK-Weizen.

Variante	Messtag			
	1	2	3	4
A	X			X
B	X	X		
C		X	X	
D	X			X
E			X	X

Gemäß der Methode wurde jede Variante zweimal vermahlen, aus jeder Mahlung wurden 4 Extrakte hergestellt. Die Messung der vier Extrakte einer Mahlung erfolgte unmittelbar nacheinander.

Die Messwerte weisen eine Normalverteilung der Residuen (KOLMOGOROV-SMIRNOV-Test) auf. Homogenität der Varianzen (LEVENE-Test) war bei allen Parametern, außer bei pH-Wert und den Redoxpotenzialen A1 und A3 gegeben. Die verwendeten statistischen Post-Hoc-Test richten sich nach diesem Ergebnis dieser statistischen Tests.

4.1.2 Ergebnisse

4.1.2.1 pH-Wert

Tabelle 14: Deskriptive Statistik pH-Wert DOK-Weizen-Vergleichsversuch.

Variante	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standard-abweichung
A = konv., Normal	8	6,46	6,48	6,4671	< 0,03
B = org.-biol.	8	6,45	6,46	6,4567	< 0,03
C = biol.-dyn.	8	6,47	6,49	6,4800	< 0,03
D = konv., mineral.	8	6,45	6,46	6,4556	< 0,03
E = Null	8	6,48	6,53	6,5067	< 0,03

Tabelle 15: Ergebnis des TAMHANE-Tests für den pH-Wert Weizen DOK-Vergleichsmessung. Die Zahlen in den Tabellenfeldern sind der P-Wert der Signifikanz.

Variante	A	B	C	D	E
A		0,150	0,174	0,078	0,003 *
B	0,150		0,002 ¹	1,000	0,001 *
C	0,174	0,002 ¹		0,001 ¹	0,054
D	0,078	1,000	0,001 ¹		0,001 *
E	0,003 *	0,001 *	0,054	0,001 *	

* statistisch signifikanter Unterschied

¹ statistisch absicherbarer Mittelwertunterschied, der jedoch innerhalb der Ergebnisunsicherheit liegt

Diskussion

Die Standardabweichungen der pH-Werte pro Variante liegen innerhalb der Messtoleranz und Methodenpräzision.

Mit dem Parameter konnte die Variante E (Null) von allen anderen Qualitäten, außer C (biologisch dynamisch) getrennt werden.

4.1.2.2 Redoxpotenzial A1

Tabelle 16: Deskriptive Statistik Redoxpotenzial A1 (NHE, mV) DOK-Weizen-Vergleichsversuch.

Variante	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standard-abweichung
A = konv., Normal	8	363	383	373,3	7,78
B = org.-biol.	8	368	381	373,3	4,71
C = biol.-dyn.	8	370	373	371,6	< 3,00
D = konv., mineral.	8	360	376	367,1	5,44
E = Null	8	351	375	365,1	7,85

Tabelle 17: Ergebnis des TAMHANE-Tests für das Redoxpotenzial A1 (NHE, mV) Weizen DOK-Vergleichsmessung. Die Zahlen in den Tabellenfeldern sind der P-Wert der Signifikanz.

Variante	A	B	C	D	E
A		1,000	1,000	0,764	0,581
B	1,000		0,999	0,374	0,348
C	1,000	0,999		0,557	0,552
D	0,764	0,374	0,552		1,000
E	0,581	0,348	0,536	1,000	

Diskussion

Die Standardabweichungen der Redoxpotenziale A1 der Varianten liegen - außer bei Qualität C - über der Methodenpräzision.

Eine statistisch signifikante Trennung der Varianten war mit dem Parameter nicht möglich.

4.1.2.3 Redoxpotenzial A2

Tabelle 18: Deskriptive Statistik Redoxpotenzial A2 (NHE, mV) DOK-Weizen-Vergleichsversuch.

Variante	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standard-abweichung
A = konv., Normal	8	358	374	367,9	5,89
B = org.-biol.	8	364	375	368,3	3,62
C = biol.-dyn.	8	360	373	365,5	3,70
D = konv., mineral.	8	359	372	365,5	4,44
E = Null	8	353	365	360,5	4,18

Variante	A	B	C	D	E
A		1,000	0,911	0,911	0,035 *
B	1,000		0,847	0,847	0,024 *
C	0,911	0,847		1,000	0,294
D	0,911	0,847	1,000		0,294
E	0,035 *	0,024 *	0,294	0,294	

Tabelle 19: Ergebnis des TUKEY-Tests für das gemessene Redoxpotenzial Weizen DOK-Vergleichsmessung. Die Zahlen in den Tabellenfeldern sind der P-Wert der Signifikanz.

* statistisch signifikanter Unterschied

Diskussion

Die Standardabweichungen der Redoxpotenziale A2 der Qualitäten liegen oberhalb der Methodenpräzision. Die Abweichungen fallen insgesamt kleiner aus als beim Redoxpotenzial A1.

Mit dem Parameter Redoxpotenzial A2 können die Varianten A (konventionell, Normal) und B (biologisch organisch) von der Variante E signifikant abgetrennt werden.

4.1.2.4 Redoxpotenzial A3

Tabelle 20: Deskriptive Statistik Redoxpotenzial A3 (NHE, mV) DOK-Weizen-Vergleichsversuch.

Variante	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
A = konv., Normal	8	356	371	364,5	6,63
B = org.-biol.	8	361	372	366,8	3,15
C = biol.-dyn.	8	356	369	361,9	4,19
D = konv., mineral.	8	356	373	364,9	5,74
E = Null	8	352	364	357,6	3,66

Tabelle 21: Ergebnis des TAMHANE-Tests für das Redoxpotenzial A3 (NHE, mV) Weizen DOK-Vergleichsmessung. Die Zahlen in den Tabellenfeldern sind der P-Wert der Signifikanz.

Variante	A	B	C	D	E
A		0,999	0,998	1,000	0,285
B	0,999		0,270	1,000	0,002 *
C	0,998	0,270		0,988	0,529
D	1,000	1,000	0,988		0,152
E	0,285	,002 *	0,529	0,152	

* statistisch signifikanter Unterschied

Diskussion

Die Standardabweichungen des Parameters pro Variante liegen wiederum oberhalb der Methodenpräzision. Die Differenzen zur Methodenpräzision liegen dabei etwa in demselben Bereich wie beim Redoxpotenzial A2.

Mit dem Parameter konnte die Qualität B (biologisch organisch) statistisch signifikant von der Qualität E (Null) getrennt werden

4.1.3 Zusammenfassende Diskussion Redoxpotenzial

Die Standardabweichungen der Mittelwertes aller Parameter pro Qualität liegen liegen durchweg außerhalb der Methodenpräzision. Da die Validität der Methodenpräzision für homogene Proben nachgewiesen ist, können nur Probeninhomogenitäten die Ursache sein. So ist die Standardabweichung des Mittelwertes bei einer Mahlung zum Teil deutlich geringer als bei zwei Mahlungen:

Tabelle 22: Standardabweichungen des Redoxpotenzials A1 bis A3 je Mahlung und für beide Mahlungen zusammen

Variante	Mahlung	Standardabweichung		
		Redoxpotenzial A1	Redoxpotenzial A2	Redoxpotenzial A3
A	1	< 3,00	< 3,00	< 3,00
	2	< 3,00	4,57	< 3,00
	1+2	7,78	5,89	6,35
B	1	< 3,00	< 3,00	< 3,00
	2	5,56	4,51	4,50
	1+2	4,47	3,62	3,15
C	1	< 3,00	3,59	< 3,00
	2	< 3,00	< 3,00	< 3,00
	1+2	< 3,00	3,70	4,19
D	1	6,70	< 3,00	< 3,00
	2	3,46	< 3,00	< 3,00
	1+2	5,44	4,44	5,74
E	1	< 3,00	< 3,00	< 3,00
	2	6,55	4,55	5,12
	1+2	7,85	4,17	3,66

Die Standardabweichungen je Mahlung sind insgesamt geringer als die Standardabweichungen für beiden Mahlungen zusammen. Doch auch für die einzelne Mahlung liegen die Standardabweichungen zum Teil noch oberhalb der mit der homogenen Probe festgestellten Methodenpräzision. Dies bestätigt die Hypothese, dass keine homogenen Proben vorgelegt haben. Da die vermessenen Proben ein Homogenat aus vier Feldwiederholungen darstellten hätten offenbar die Feldwiederholungsportionen, die zum Mischen verwendet wurden, größer sein müssen. Auch ist vorstellbar, dass Unterschiede zwischen den Feldwiederholungsproben einer Variante bestanden. Auch dies könnte Teil der festgestellten Probeninhomogenität sein.

Die Auswertung auf Basis der einzelnen Mahlgänge brachte keine weiteren signifikanten Unterscheidungen der Varianten.

An den Daten für die Redoxpotenziale A1 bis A3 ist zu erkennen, dass die Variante E immer den geringsten Mittelwert aufweist. Daher ist zu vermuten, dass die Redoxpotenziale A1 bis A3 miteinander korrelieren. Diese Beziehung konnte bestätigt werden (PEARSON-Korrelation, $P < 0,01$).

4.1.4 Spezifische Leitfähigkeit

Tabelle 23: Deskriptive Statistik der spezifischen Leitfähigkeit ($\text{mS} \cdot \text{cm}^{-1}$) DOK-Weizen-Vergleichsversuch.

Qualität	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standard-abweichung
A = konv., Normal	8	0,76	0,96	0,8963	0,0647
B = org.-biol.	8	0,89	0,97	0,9240	< 0,0400
C = biol.-dyn.	8	0,86	0,95	0,9008	< 0,0400
D = konv., mineral.	8	0,88	0,94	0,9104	< 0,0400
E = Null	8	0,86	0,99	0,9442	0,0444

Diskussion

Die Mittelwerte der spezifischen Leitfähigkeiten der Qualitäten A bis E variieren innerhalb der Messpräzision. Eine statistische Untersuchung der Mittelwertunterschiede erübrigt sich daher. Die Präzisionen - abgebildet durch die Standardabweichungen des Mittelwertes - liegen nur zum Teil innerhalb der Methodenpräzision. Auch hieran bestätigt sich die Vermutung, dass die Probe nicht homogen waren.

4.2 Möhren aus einem Düngungsversuch der Universität Kassel

Es wurden zwei Möhrenproben vermessen, die aus einem Düngungsversuch der Universität Kassel stammten (vgl. Anhang 8.1, Unterabschnitt 3.3.2). Die Anlieferung erfolgte am 29.09.2003. Die Möhren wurden nach Anlieferung im Kühlschrank bei etwa 4 °C aufbewahrt. Zur Temperierung auf Labortemperatur wurden die Möhren am Vorabend gegen 21.00 Uhr entnommen und in einer Plastekiste abgedeckt ins Labor gestellt. Am Messtag, dem 30.03.2003, wurde gegen 8.00 Uhr mit dem Waschen der Möhren begonnen.

Aus den zwei angelieferten Proben wurden vier Subsamples mit vergleichbarer Größen- und Gewichtsverteilung gebildet. Die Subsamples einer Variante wurden mit fortlaufenden Nummern von 1 bis 4 gekennzeichnet.

Auffällig war ein Anteil von etwa 1/3 weicher Möhren (vermutlich Schäden durch Austrocknung). Bei der Bildung der Subsamples wurden auch diese gleichmäßig verteilt. Die Proben standen vom Reinigen bis zur Messung abgedeckt bei Labortemperatur.

Die Proben waren mit "M77" und "M88" codiert. Die Reihenfolge der Messungen erfolgte zufällig hinsichtlich der Wahl der Subsample-Nummer. Die Qualitäten wurden abwechselnd vermessen. Die Probenreihenfolge ergibt sich aus der folgenden Darstellung:

1	2	3	4	5	6	7	8
77/4	88/2	77/3	88/1	77/2	88/4	77/1	88/3

Neben der in der EQC-Methode (vgl Kapitel 3.3) vorgesehenen Redox-Elektrode ("MC 21") wurde eine Gold-Messelektrode (Hamilton Polilyte Rx120 AU = "Au") für die Messungen verwendet. Diese wurde entsprechend der Weizenmethode (Anhang 8.2, Unterpunkt M 2.2.2) konditioniert. Die Ergebnisse der Messungen sind in der folgenden Tabelle dargestellt:

Tabelle 24: Deskriptive Statistik für die Vergleichsmessung an Möhren Düngungsversuch Universität Kassel.

Variante		N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standard-abweichung
M77	pH	4	6,39	6,44	6,415	< 0,03
	Redoxpotenzial (MC21, mV, NHE)	4	119	128	124,8	3,95
	Redoxpotenzial (Au, mV, NHE)	4	85	113	95,8	12,09
	spez. Leitfähigkeit (mS · cm ⁻¹)	4	5,78	6,15	6,01	0,1626
M88	pH	4	6,31	6,36	6,334	< 0,03
	Redoxpotenzial (MC21, mV, NHE)	4	136	145	140,0	3,92
	Redoxpotenzial (Au, mV, NHE)	4	91	110	104,0	8,83
	spez. Leitfähigkeit (mS · cm ⁻¹)	4	5,91	6,00	5,94	= 0,0400

Die pH-Werte liegen innerhalb der Messpräzision. Gleiches gilt für die spezifische Leitfähigkeit bei der Möhre M88, nicht jedoch für M77. Auffällig ist eine hohe Standardabweichung bei der Au-Elektrode. Die Standardabweichung des Redoxpotenzials für die MC 21 liegt nahe der Messpräzision.

Normalverteilung der Messwerte (SHAPIRO-WILK-Test) und Homogenität der Varianzen (LEVENE-Test) ist gegeben. Die ANOVA weist signifikante Unterschiede der Mittelwerte für den pH-Wert (P = 0,02) und das Redoxpotenzial der Elektrode MC21 (P = 0,002) aus.

Sieht man sich die grafische Darstellung der Messwerte der Au-Elektrode an (Abbildung 7), wird deutlich, dass tendenziell eine gleichlautende Trennung der Qualitäten mit dieser Elektrode

erfolgte. Hier liegen jedoch offenbar Ausreißer vor (bestätigt durch GRUBBS-Ausreißertest¹, $P < 0,05$). Die Ausreißer sind die erste und die letzte Messung der Messreihe. Während bei der

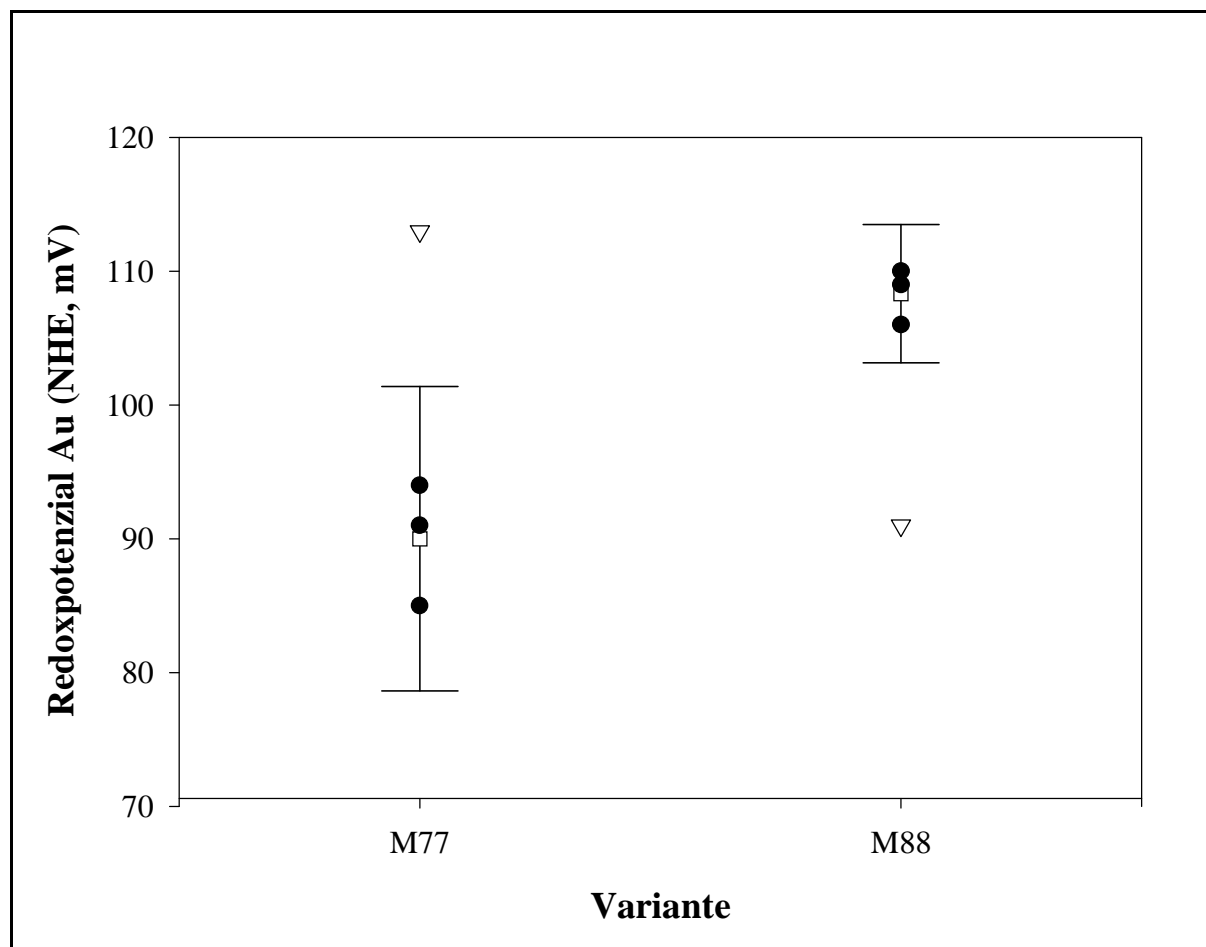


Abbildung 7: Redoxpotenzial-Einzelwerte (Kreise) für das Redoxpotenzial Au (NHE, mV). Dargestellt sind die 95%-Konfidenzintervalle und Mittelwerte (Quadrate) für die Messwerte nach Eliminierung der Ausreißer (Dreiecke).

ersten Messung die Konditionierung der Elektrode noch nicht vollständig gewesen sein könnte, bleibt der Grund für die starke Abweichung der letzten Messung unklar. Unter Eliminierung dieser mutmaßlichen Ausreißer ergibt sich in der ANOVA eine Trennung mit einem $P = 0,003$, also vergleichbar mit der anderen Messelektrode. Auch reduzieren sich die Standardabweichungen der Mittelwerte deutlich auf zur Elektrode MC 21 vergleichbare Werte ($M77 = 4,6$ mV; $M88 < 3$ mV).

Bei der spezifischen Leitfähigkeit ergibt sich ein ähnliches Problem. Auch hier weicht der

¹ vgl. KROMIDAS 2000, 62

Messwert der ersten Messung bei der Möhre M77 stark von den anderen ab (GRUBBS-P = 0,05). Wird auch dieser Messwert eliminiert ergibt sich eine signifikante Trennung mittels der Leitfähigkeit (P=0,006).

Den hier dargestellten Messungen (“eigene Messung”) können Messungen der EQC am selben Probenmaterial mit einer vergleichbaren Methode (“EQC”) gegenübergestellt werden:

Tabelle 25: Ergebnisvergleich zwischen EQC und den eigenen Messungen für die Möhren M77 und M88.

Parameter	M77		M88	
	EQC	eigene Messung	EQC	eigene Messung
pH	6,29	6,42	6,29	6,33
Redoxpotenzial (MC21, mV, NHE)	59	125	61	140
spez. Leitfähigkeit (mS · cm ⁻¹)	5,64	6,01	5,65	5,93

Es zeigt sich, dass bei keinem der Parameter eine Übereinstimmung gefunden wurde.

Mögliche Gründe für die Abweichungen der beiden Messreihen könnten sein:

1. Lagerschäden der Proben (Austrocknung, weiche Möhren). Lagerungseffekte überdecken Effekte der Behandlung
2. vermessene Teilproben waren nicht repräsentativ für die Grundgesamtheit
3. die andere Bildung der Teilproben (Subsamples gleicher Größenverteilung vs. “10 mittlere Möhren”)
4. Die angewandte Prozedur war nicht eindeutig formuliert. Die deshalb vorgenommenen Ergänzungen und Modifikationen sowie abweichende Auslegung der Methodenvorschriften könnten zu Differenzen bei den Messergebnissen geführt haben.

Um die Methode nutzbar zu machen wäre vorrangig eine Präzisierung der Methode notwendig. Anschließend müssen weitere Vergleichsversuche durchgeführt werden um die Aussagefähigkeit elektrochemischer Parameter für die Versuchsfrage zu überprüfen.

5 Exkurs: Vergleich von zwei unterschiedlichen Redox-Messelektroden

Während der Messungen der Weizen- und Möhrenproben stellte sich immer wieder die Frage, welchen Einfluss Messelektrode und Konditionierung auf das Messergebnis des Redoxpotenzials und seine Reproduzierbarkeit haben. Während bei Weizen mit der Hamilton Polilyte Rx120 gut reproduzierbare Ergebnisse erzielt wurden, war dies bei Vorversuchen mit Möhren nicht der Fall. Hier zeigte die Plättchenelektrode MC21 deutliche besser reproduzierbare Ergebnisse. Es lag daher nahe, die beiden Elektroden an einem möglichst homogenen Medium zu vergleichen. Gleichzeitig sollte eine modifizierte Konditionierungsmethode für die Hamiltonelektrode getestet werden.

STALLER favorisiert Wein als homogenen Messstandard (vgl. MEIER-PLOEGER et al., 2004). Dieser wurde als Versuchsmedium gewählt. Mit diesem Versuch soll auch untersucht werden, ob sich Wein als Prüfmittel für die Messapparatur, insbesondere für das Redoxpotenzial, eignet (vgl. 3.4.2.1.3).

Versuch

Vermessen wurde Wein der Rebsorte "Grüner Veltiner", wie er auch von STALLER benutzt wurde (STALLER 2003). Es standen drei 1-l-Flaschen zur Verfügung. Da eine Methodenbeschreibung zur Benutzung von Wein als Prüfmittel nicht zur Verfügung stand, konnte der Versuch nicht als Vergleichsmessung durchgeführt werden. Es wurde daher ein eigener Versuch entworfen und durchgeführt.

Die drei zur Verfügung stehenden Flaschen wurden unmittelbar nacheinander vermessen. Aus der jeweils frisch geöffneten Flasche wurden mit einer Varipette revolvierend in 10 ml-Portionen sechs 100 ml-Bechergläser (hohe Form) mit je 60 ml gefüllt. Hiervon wurden fünf Bechergläser mit Parafilm verschlossen und bis zur Messung in ein auf 25°C temperiertes Wasserbad (Thermo Haake DC10-W5P) gestellt. Das jeweils sechste Glas wurde sofort vermessen. Die Konditionierung der Plättchenelektrode MC 21 erfolgte analog Abschnitt 2.3.

DEIBNER und MORGUES haben gute Erfahrungen mit einer sauer-oxidierenden Konditionierung gesammelt (DEIBNER und MORGUES 1969). Als Weiterentwicklung der bisherigen Konditionierungsmethode wurde für die Hamilton-Elektrode eine gegenüber der Weizenmethode abgewandelte Konditionierung angewendet, die sich an diese sauer-oxidierende Konditionierung anlehnt: Vor jeder Messung wurde die Elektrode für 5 s in verdünnte

Chromschwefelsäure¹ gestellt, mit destilliertem Wasser abgespült und für 3 min in Redoxpuffer gestellt. Die Konditionierungsmethode soll mit diesem Versuch getestet werden.

Die Messung erfolgte mit der Standardmesskonfiguration (vgl. Anhang 8.2, Unterpunkt M 1 ff.). Zusätzlich wurde an den mV-Eingang des Dataloggers die Platin-Plättchenelektrode (MC 21) angeschlossen. Der Eingang für die Bezugslektrode des mV-Eingangs wurde mittels eines Messkabels mit der Bezugslektrode der Porotrode verbunden. Die Messwerte wurden in 10-s-Abständen aufgenommen. Die Messzeit betrug 600 s. Als Aliquot-Messwert wurde der Median der letzten drei protokollierten Messwerte verwendet (ROI = 570 - 600 s). Ab etwa 400 s änderten sich die Redoxpotenziale nur noch wenig. Die pH-Werte und spezifischen Leitfähigkeiten blieben während der gesamten Messdauer weitgehend konstant.

Ergebnisse

Tabelle 26: Deskriptive Statistik. Elektrochemische Messungen an Wein, Statistik je Flasche.

Flasche		N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
1	pH	6	3,33	3,34	3,34	< 0,03
	Redoxpotenzial (Hamilton, mV, NHE)	6	328	338	332,8	4,45
	Redoxpotenzial (MC 21, mV, NHE)	6	310	320	315,2	3,76
	spez. Leitfähigkeit (mS · cm ⁻¹)	6	1,75	1,79	1,77	< 0,0400
2	pH	6	3,33	3,33	3,33	< 0,03
	Redoxpotenzial (Hamilton, mV, NHE)	6	325	341	334,0	5,51
	Redoxpotenzial (MC 21, mV, NHE)	6	302	322	314,5	7,66
	spez. Leitfähigkeit (mS · cm ⁻¹)	6	1,74	1,80	1,78	< 0,0400
3	pH	6	3,33	3,34	3,33	< 0,03
	Redoxpotenzial (Hamilton, mV, NHE)	6	326	346	338,8	7,60
	Redoxpotenzial (MC 21, mV, NHE)	6	299	325	316,5	9,73
	spez. Leitfähigkeit (mS · cm ⁻¹)	6	1,70	1,82	1,79	0,0454

Diskussion

Die elektrochemischen Messwerte lassen sich von Flasche zu Flasche gut reproduzieren. Die mit

¹ 10 ml Chromschwefelsäure p.a. [Merck] in 50 ml dest. Wasser

der Elektrode MC 21 gemessenen Redoxpotenziale sind besser reproduzierbar als die mit der Hamilton-Elektrode gemessenen. Unter der Prämisse, dass Wein für die Dauer von 6 Aliquotmessungen stabil ist, kann als Messpräzision die Standardabweichung der Messwerte einer Flasche angenommen werden. Diese ist bei der MC 21 insgesamt höher als bei der anderen Elektrode. Sie liegt bei beiden Elektroden deutlich oberhalb der Gerätetoleranz. Die Ursachen hierfür sollen in der Folge untersucht werden.

Auffällig bei beiden Elektroden ist die große Spannweite der Aliquotmesswerte je Flasche. Diese soll in Boxplots visualisiert werden:

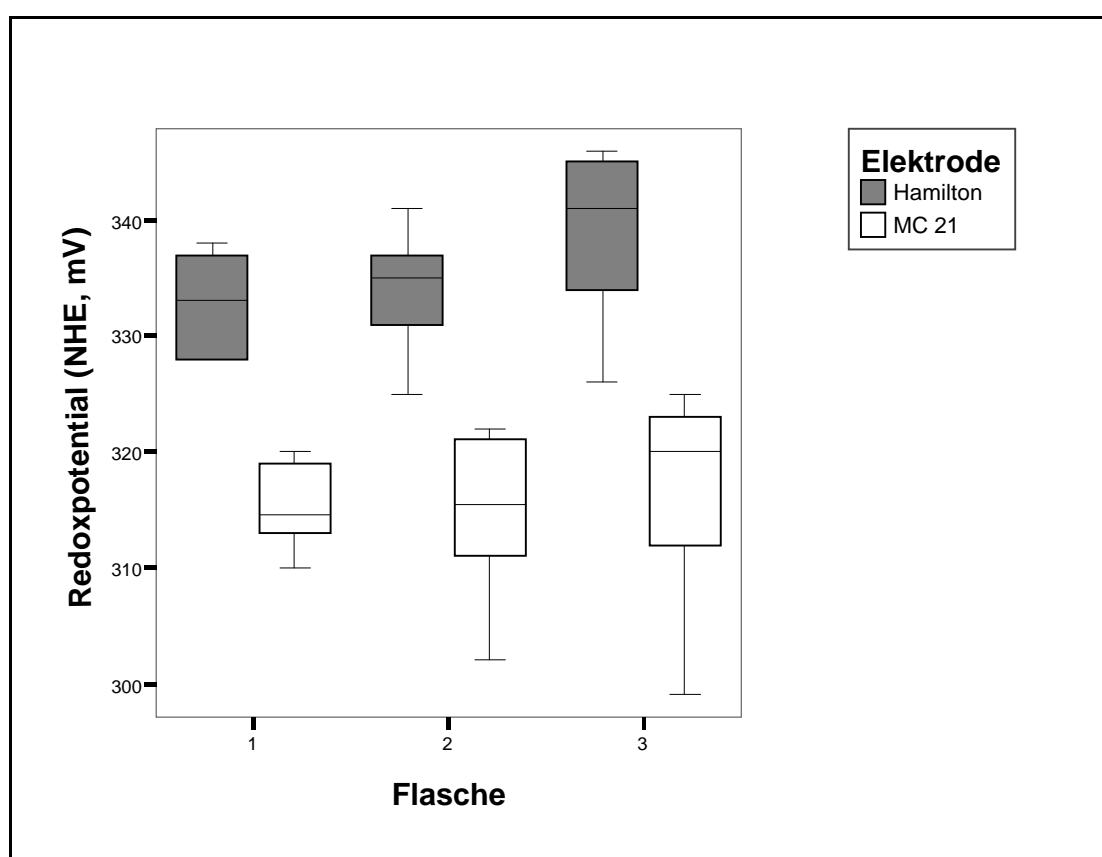


Abbildung 8: Boxplots für die N = 6 Aliquotmesswerte pro Flaschen Wein für die beiden verwendeten Elektroden

Aus den Boxplots kann geschlossen werden, dass die Redoxmesswerte pro Flasche nicht normalverteilt sind. Sie schwanken also mutmaßlich nicht zufällig um einen Mittelwert. Es liegt daher nahe, abweichend von der eben formulierten Hypothese einer stabilen Lösung eine Alterung des Weins während der Verfahrensdauer (Messung von 6 Aliquoten) zu vermuten.

Um dies abzusichern wurde die lineare Regression nach PERASON des Redoxpotenzials zur Aliquotnummer gerechnet. Unterstellt wird die zutreffende Annahme, dass die Aliquote im

gleichen Zeitabstand vermessen wurden. Unter dieser Annahme kann die Aliquotnummer als metrische Variable mit direkter Proportionalität zur Zeit betrachtet werden.

Tabelle 27: Lineare Regression der Parameter zur Aliquotnummer

Parameter	PEARSON-P	PEARSON-R	R ²
pH	0,589	0,137	0,019
Redoxpotenzial (Hamilton, mV, NHE)	< 0,001	0,848	0,719
Redoxpotenzial (MC 21, mV, NHE)	< 0,001	0,873	0,763
spez. Leitfähigkeit (mS · cm ⁻¹)	0,025	0,526	0,276

Der pH-Wert zeigt keinen zeitlichen Trend. Dagegen zeigen die spez. Leitfähigkeit einen signifikanten und die Redoxpotenziale einen höchst signifikanten zeitlichen Trend. Um diesen zeitlichen Trend zu eliminieren erscheint es daher zweckmäßig, die Messdaten je Aliquotnummer zusammenzufassen.

Tabelle 28: Deskriptive Statistik je Aliquot für die elektrochemischen Messungen an Wein

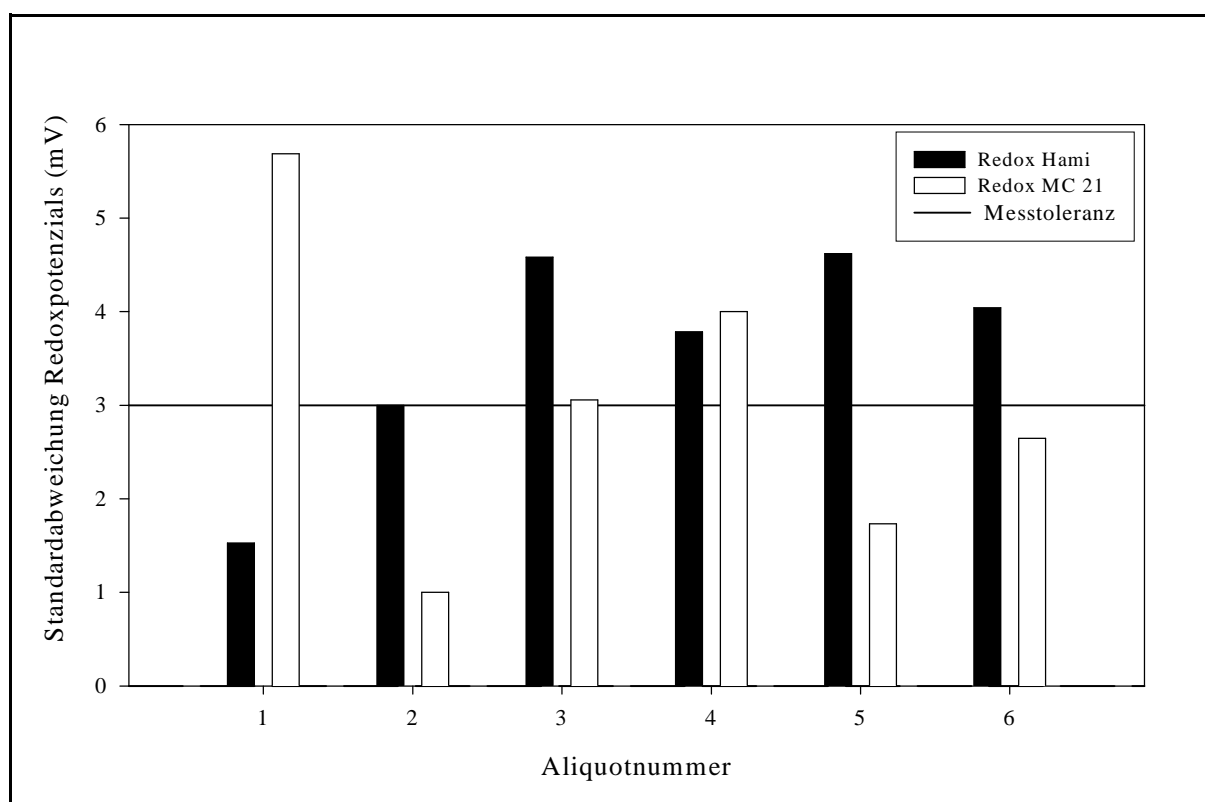
Aliquot		N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standard- abweichung
1	pH	3	3,33	3,34	3,33	< 0,03
	Redoxpotenzial (Hamilton, mV, NHE)	3	325	328	326,3	< 3,00
	Redoxpotenzial (MC 21, mV, NHE)	3	299	310	303,7	5,67
	spez. Leitfähigkeit (mS · cm ⁻¹)	3	1,70	1,75	1,73	< 0,04
2	pH	3	3,33	3,33	3,33	< 0,03
	Redoxpotenzial (Hamilton, mV, NHE)	3	328	334	331,0	= 3,00
	Redoxpotenzial (MC 21, mV, NHE)	3	311	313	312,0	< 3,00
	spez. Leitfähigkeit (mS · cm ⁻¹)	3	1,78	1,81	1,79	< 0,04
3	pH	3	3,33	3,34	3,33	< 0,03
	Redoxpotenzial (Hamilton, mV, NHE)	3	331	340	335,0	4,58
	Redoxpotenzial (MC 21, mV, NHE)	3	312	318	314,7	3,06
	spez. Leitfähigkeit (mS · cm ⁻¹)	3	1,75	1,81	1,78	< 0,04
4	pH	3	3,33	3,34	3,33	< 0,03
	Redoxpotenzial (Hamilton, mV, NHE)	3	335	342	337,7	3,79
	Redoxpotenzial (MC 21, mV, NHE)	3	315	323	319,0	4,00
	spez. Leitfähigkeit (mS · cm ⁻¹)	3	1,76	1,82	1,79	< 0,04
5	pH	3	3,33	3,34	3,33	< 0,03
	Redoxpotenzial (Hamilton, mV, NHE)	3	337	345	339,7	4,62
	Redoxpotenzial (MC 21, mV, NHE)	3	319	322	321,0	< 3,00
	spez. Leitfähigkeit (mS · cm ⁻¹)	3	1,78	1,82	1,80	< 0,04

Tabelle 28: Deskriptive Statistik je Aliquot für die elektrochemischen Messungen an Wein

Aliquot		N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standard- abweichung
6	pH	3	3,33	3,34	3,33	< 0,03
	Redoxpotenzial (Hamilton, mV, NHE)	3	338	346	341,7	4,04
	Redoxpotenzial (MC 21, mV, NHE)	3	320	325	322,0	< 3,00
	spez. Leitfähigkeit ($\text{mS} \cdot \text{cm}^{-1}$)	3	1,78	1,81	1,79	< 0,04

Die als Wiederholpräzision zu interpretierenden Standardabweichungen der Aliquotmesswerte für pH-Wert und spezifische Leitfähigkeit bewegen sich weiterhin innerhalb der Gerätetoleranz. Die Standardabweichungen für das Redoxpotenzial liegen deutlich niedriger als bei der Betrachtung auf Flaschenbasis. Sie liegen aber weiterhin zum Teil oberhalb der Gerätetoleranz.

Zu dieser Statistik und den in Folge angestellten Betrachtungen ist kritisch anzumerken, dass sich die Statistik nur auf $N = 3$ Messwerte stützt. Mit dieser Stichprobengröße kann keine verlässliche statistische Aussage getroffen werden, allenfalls kann ein Trend abgeschätzt werden. Eine Ausweitung der Stichprobe wäre wünschenswert gewesen, war jedoch mangels Probenmaterial nicht möglich.

**Abbildung 9:** Vergleich der Standardabweichungen der Aliquotmittelwerte des Redoxpotenzials für $N = 3$ vermessene Flaschen Wein bei zwei unterschiedliche Elektroden.**Erläuterung zur Legende:**

Redox Hami = Redoxpotenzial Hamilton (NHE, mV)

Redox MC 21 = Redoxpotenzial MC 21 (NHE, mV)

Wie aus vorstehender Abbildung hervorgeht, sind die Standardabweichungen bei der MC 21 außer beim ersten und vierten Aliquot niedriger als die der Hamilton-Elektrode. Diese weist ab dem dritten Aliquot über der Messtoleranz liegende Standardabweichungen auf. Um einen eventuellen Trend der Standardabweichungen zur Aliquotnummer zu bestätigen, müssten mehr Messungen durchgeführt werden.

Die Messwerte der beiden Messelektroden weichen augenscheinlich hinsichtlich ihres Betrages voneinander ab. Es besteht jedoch eine Korrelation zwischen den Messwerten beider Elektroden (Korrelation nach PEARSON, $R = 0,901$, $P < 0,01$).

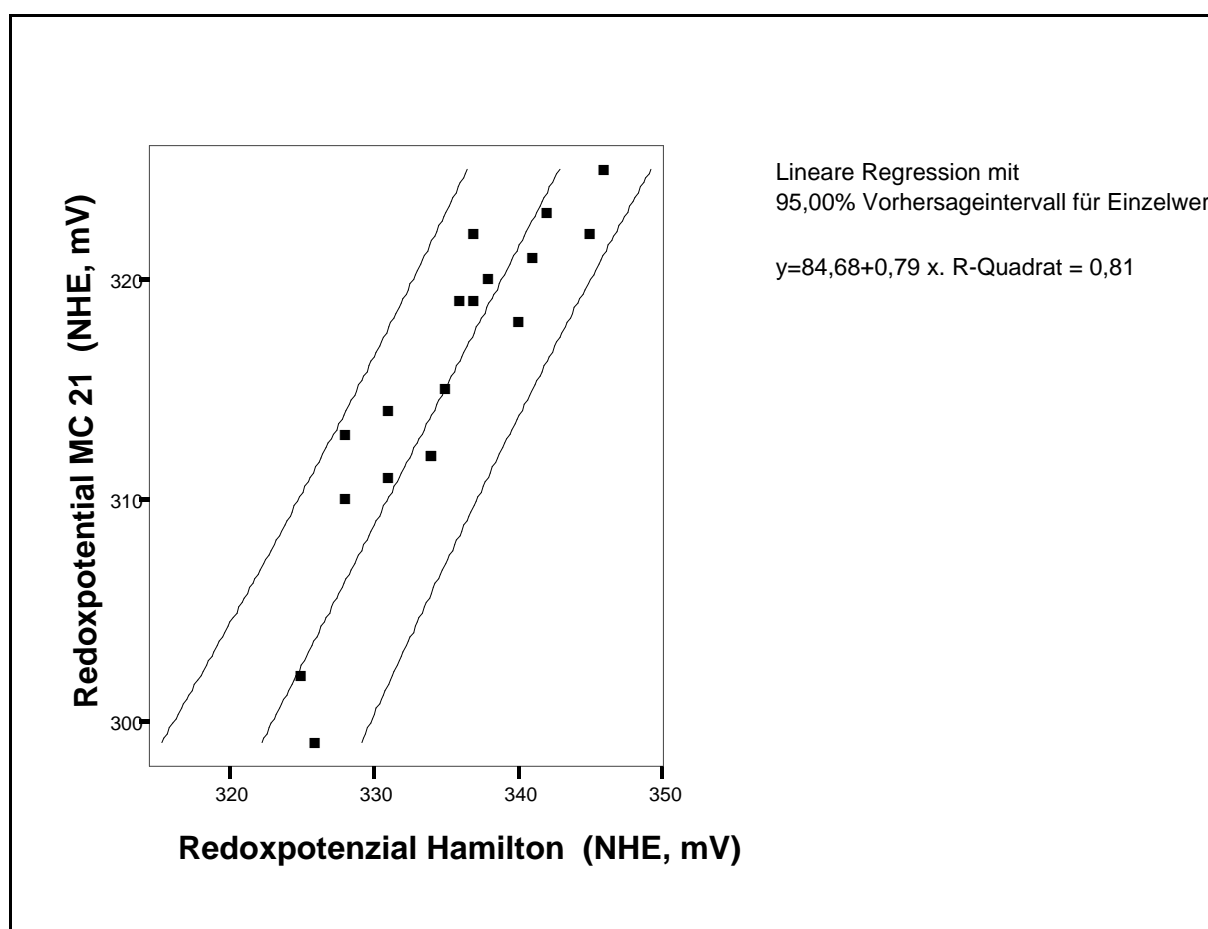


Abbildung 10: Lineare Regression des Redoxpotenzials von zwei Elektroden für $n=18$ Messungen an Wein. In der Abbildung ist neben der linearen Regression an die Messpunkte auch der 95%-Vertrauensbereich eingezeichnet.

Als interessant erwies sich auch die Betrachtung des Redoxpotenzials der einzelnen Elektroden im Zeitverlauf. Hierfür wurden kumulierte Kurven erstellt. Aus den Standardabweichungen der Aliquote (vgl. Abbildung 9) ist für das zweite Aliquot für beide Redoxpotenziale ein unter der Messtoleranz liegender Wert zu ersehen. Daher wurden für das jeweils zweite Aliquot aller Flasche für alle Messzeitpunkte die Messdaten gemittelt und in Abhängigkeit von der Zeit

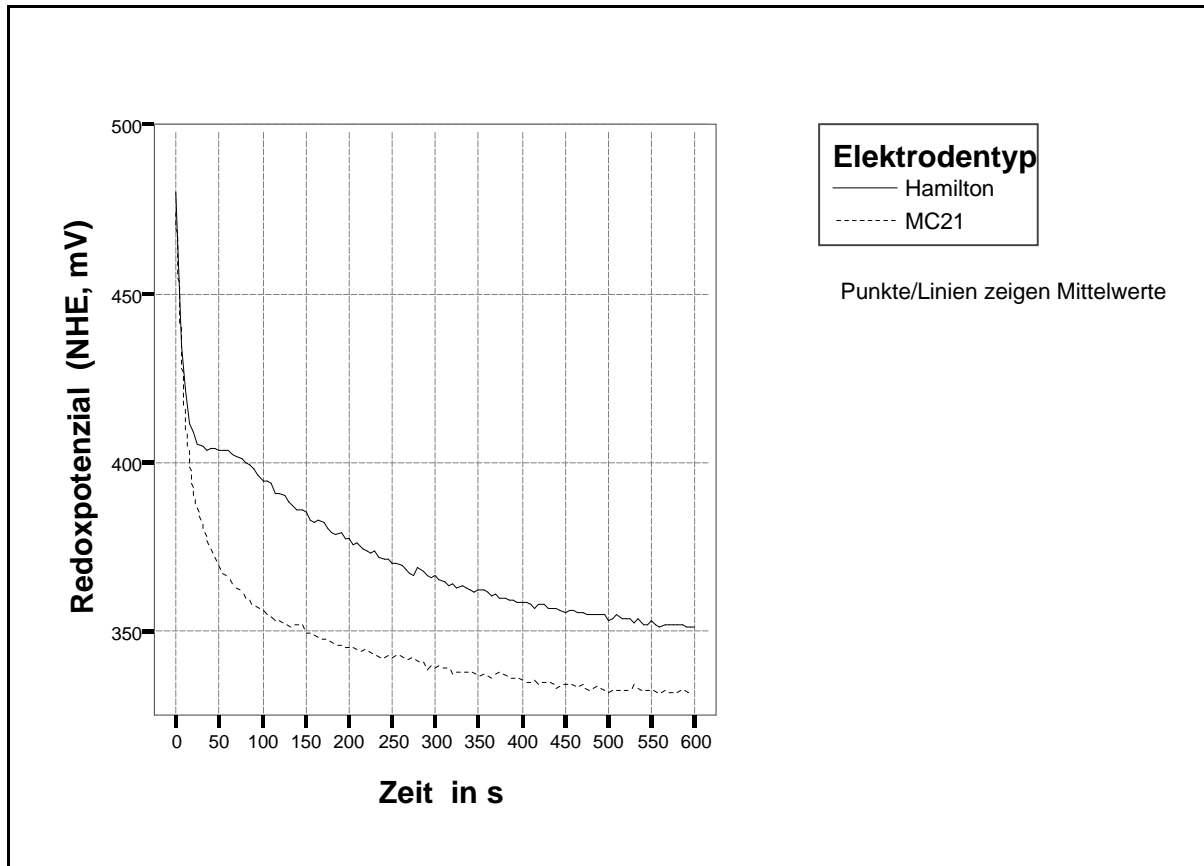


Abbildung 11: Messkurven des Redoxpotenzials zur Zeit von zwei Messelektroden. Die Einzelmesswerte wurden je Messzeitpunkt arithmetisch gemittelt.

aufgetragen (vgl. Abbildung 11). Die Kurvenformen weichen deutlich voneinander ab. Die Messkurve der MC 21 weist nur einen Wendepunkt bei etwa 100 s auf. Dagegen bildet sich bei der Hamilton-Elektrode ein Plateau bei etwa 50 s heraus. Dieses erinnert an die Messkurve einer Redoxtitration. Dieses Plateau findet sich bei allen Messreihen. Hieraus wird deutlich, dass an den Elektroden unterschiedliche Prozesse während der Messung ablaufen. Die Aufklärung der zugrundeliegenden Mechanismen war nicht Bestandteil dieser Arbeit. Alles deutet aber darauf hin, dass sich an den beiden Elektroden unterschiedliche Redoxgleichgewichte einstellen.

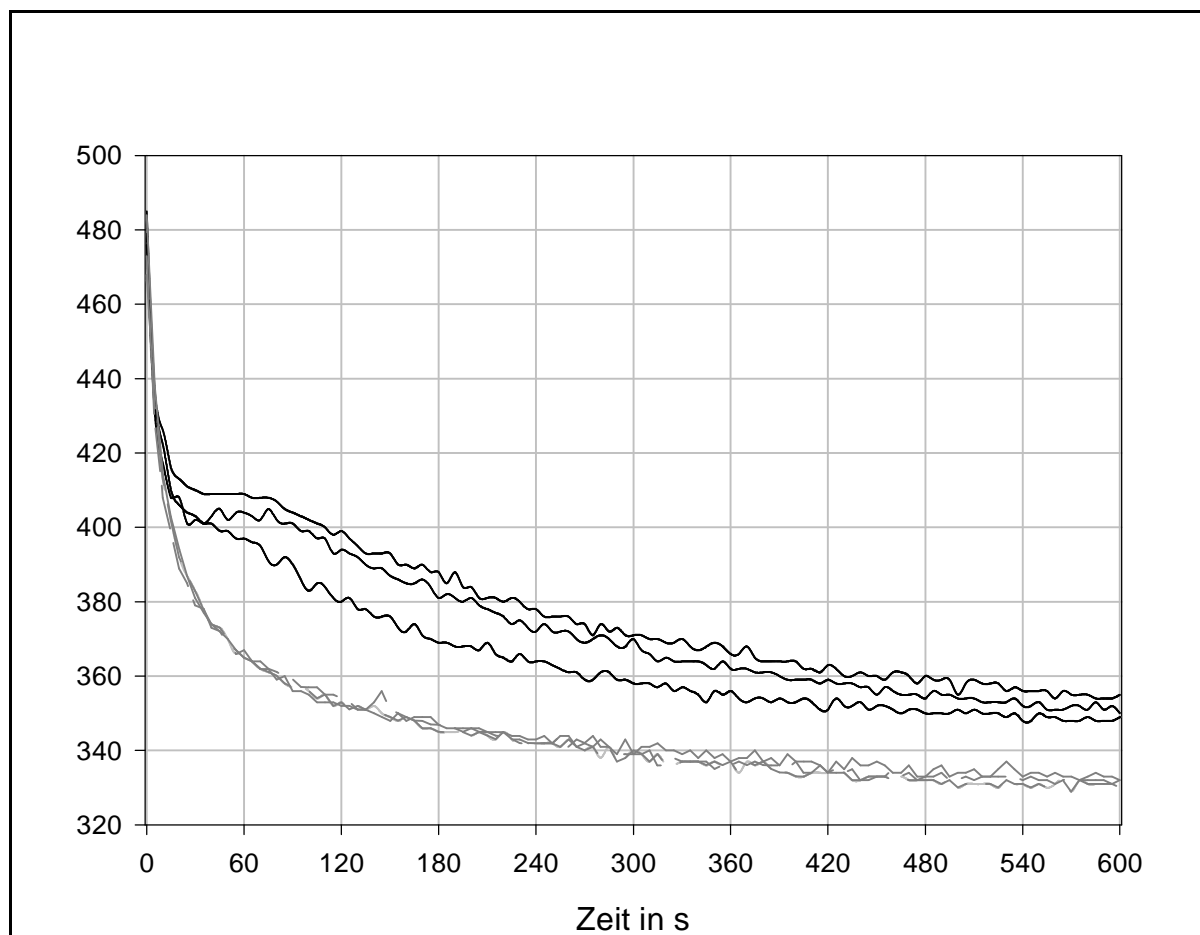


Abbildung 12: Kurven für die Einzelmesswerte des Redoxpotenzials je Flasche und Elektrode (2. Aliquot). Die hellere Messkurven sind der Elektrode MC21, die dunkleren der Hamilton-Elektrode zuzuordnen.

Wie aus vorstehender Abbildung deutlich wird, liegen die Kurven der MC21 enger zusammen als die der Hamilton-Elektrode. Dies könnte ein Indiz dafür sein, dass die Konditionierungsmethode für die Hamilton-Elektrode noch nicht ausgereift ist. Gleichzeitig ist die Zweckmäßigkeit der Reinigungsprozedur, wie sie für die MC21 durchgeführt wird, damit zu begründen. Es erscheint möglich die vorgeschlagene sauer-oxidierende Konditionierungsmethode so zu verbessern, dass ähnlich präzise Ergebnisse erreicht werden, wie mit der Elektrode MC 21. Es besteht weiterer Forschungsbedarf.

Aus den in diesem Abschnitt beschriebenen Versuchen wird insbesondere deutlich, dass jedweder Beschäftigung mit dem Redoxpotenzial als Parameter zur Differenzierung biologischer Proben eine intensive Beschäftigung mit dem Verhalten der Messelektrode im Messmedium vorangehen muss.

Als weitere Konsequenz sind nur solche Redoxmessungen von biologischen Medien vergleichbar, die mit demselben Elektrodentyp und derselben Messmethode ermittelt wurden.

Für Messungen an Wein ist die Plättchenelektrode MC 21 mit der Konditionierung nach STALLER (2003) besser geeignet als die Hamiltonelektrode mit der derzeitigen Konditionierung. Zu untersuchen wäre, ob dies auch für andere Medien zutrifft. Für Möhren kann davon nach den Ergebnissen des Vergleichsversuches ausgegangen werden. Für die elektrochemische Methode zur Differenzierung von Weizenproben sollte die Anwendung dieser Elektrode geprüft werden.

Wein als Messtandard ist weniger gut geeignet als anorganische Standards. Die Gründe dafür liegen zum einen in der längeren Messzeit (600 s statt 60 s). Zum anderen gestaltet sich die Angabe eines richtigen Wertes für das Redoxpotenzial durch die Alterung des Weines während der Messdauer schwierig. Die Handhabung dieses Prüfmittels ist insgesamt schwieriger. Nicht zuletzt ist der Preis für Wein als Standard deutlich höher als für den vorgeschlagenen anorganischen Standard. Als Medium zur Untersuchung des Elektrodenverhaltens in biologischen Medien und die Entwicklung und Prüfung von Konditionierungsverfahren ist Wein jedoch ideal.

6 Zusammenfassung

6.1 Entwicklung und Dokumentation

Die theoretischen Grundlagen für die Messung von pH-Wert, Redoxpotenzial und spezifischer Leitfähigkeit wurden beschrieben. Hieraus wurden kritische Einflussfaktoren für die Messung dieser Parameter in biologischen Medien ermittelt.

Die Methodenentwicklung ging von einer bestehenden Probenvorbereitungssequenz für Weizenextrakte aus, wie sie bereits für die Kupferchloridkristallisation verwendet wird. Die Probenvorbereitung wurde an die Erfordernisse einer Methode für die elektrochemische Messung von Weizenproben angepasst und optimiert.

Der Verlauf der Messparameter während der Messdauer wurde untersucht. Während sich bei den Parametern pH-Wert und spezifische Leitfähigkeit innerhalb von 60 s ein stabiler Messwert einstellt, stellt das Redoxpotenzial eine kubische bzw. lineare Funktion der Zeit dar. Daraus wurden Messdauer und Auswertungsmethode abgeleitet.

Die soweit entwickelte Methode wurde dokumentiert.

Das Messequipment wurde einer Qualifizierung unterzogen. Hierbei wurde die vom Hersteller angegebene Gerätetoleranz mit der Präzision des Messgerätes inklusive dem Messequipment, wie es für die Messungen benutzt wurde, verglichen. Die Präzision von Messequipment und Messgerät (verifizierte Messtoleranz) war identisch mit der vom Hersteller angegebenen Gerätetoleranz. Die verifizierte Messtoleranz ist damit der begrenzende Faktor für die Methodenpräzision.

Aufbauend auf der Gerätequalifikation wurde ein Standard für die Überprüfung der Messapparatur entwickelt und validiert.

6.2 Validierung

Die dokumentierte Methode wurde einer Analyse hinsichtlich kritischer Einflussfaktoren unterzogen, die das Ergebnis beeinflussen können. Soweit diese nicht kontrolliert werden konnten, wurde ihr Einfluss geprüft.

Anschließend wurden die Validierungsparameter Methoden- und Verfahrenspräzision ermittelt. Diese entsprachen - außer bei einem Messparameter - der verifizierten Messtoleranz. Eine weitere Verbesserung der Methoden- und Verfahrenspräzision hätte demzufolge erfordert, dass die Gerätetoleranz als begrenzender Faktor verringert würde.

6.3 Vergleichsmessungen DOK-Weizenproben (Ernte 2003)

Fünf Weizenproben aus dem DOK-Versuch wurden mit der validierten Methode untersucht. Die Proben unterschieden sich hinsichtlich des Anbauverfahrens und speziell hinsichtlich Art und Menge des gegebenen Düngers.

Die Proben konnten teilweise signifikant differenziert werden. Dabei war mit dem pH-Wert und teilweise mit dem Redoxpotenzial eine Differenzierung einer Variante von allen anderen Varianten möglich. Das Ziel, alle Varianten statistisch signifikant voneinander zu trennen, wurde noch nicht erreicht.

6.4 Vergleichsmessungen Möhrenproben aus Düngungsversuch der Universität Kassel

Für Möhren lag eine validierte Methode vor. Diese wurde ergänzt und modifiziert. Hiermit wurden Möhren aus einem Düngungsversuch untersucht. Die Möhren unterschieden sich hinsichtlich der gedüngten Stickstoffmenge. Das Redoxpotenzial wurde mit zwei verschiedenen Elektroden gemessen.

Mit der Methode konnte eine statistisch signifikante Trennung der Proben mit allen drei Parametern - z.T. jedoch erst nach Eliminierung von Ausreißern - erfolgen. Die Redoxpotenziale der beiden Elektroden stimmten nicht überein, korrelierten jedoch statistisch signifikant.

6.5 Vergleich von zwei Redoxmeselektroden an Wein

Bei einem ergänzenden Vergleich zweier Redoxelektroden an Wein wurde die Wichtigkeit des Konditionierungsverfahrens der Elektrode bestätigt. Es zeigten sich deutliche Unterschiede bei Messkurven des Redoxpotenzials zur Zeit je nach eingesetztem Konditionierungsverfahren. Unterschiede bestanden auch hinsichtlich der Messpräzision. Der Versuch bestätigte die Wichtigkeit der Grundlagenforschung an Elektroden und Konditionierungsverfahren für die Verbesserung der Präzision elektrochemischer Untersuchungsverfahren bei Lebensmitteln.

Im Ergebnis des Versuches konnte auch die Eignung von Wein als Prüfmittel für elektrochemische Parameter beurteilt werden. Danach ist Wein nur bedingt als Prüfmittel geeignet. Als Medium zur Untersuchung des Elektrodenverhaltens in biologischen Medien und für die Entwicklung und Prüfung von Konditionierungsverfahren ist Wein jedoch ideal.

6.6 Diskussion und Ausblick

Im Vergleichsjahr war die Methode zur Differenzierung von Weizenproben nur teilweise geeignet, die Varianten der DOK-Versuches statistisch signifikant voneinander zu trennen. Ob dies jedoch an den schwierigen Anbauverhältnissen des Jahres 2003 (Trockenheit) oder an der

Trennfähigkeit der Methode liegt, muss durch weitere Versuche mit der Methode geklärt werden.

Auffällig war eine über der validierten Methodenpräzision liegende Standardabweichung der Probenmittelwerte, die auf Probeninhomogenitäten der aus Feldwiederholungen gemischten Proben zurückzuführen war. Für weitere Vergleichsmessungen muss daher eine homogenere Ausgangsprobe zur Verfügung stehen oder an Feldwiederholungen gemessen werden.

Prinzipiell ist mit der Methode eine Trennung von Anbauverfahren möglich. Weiterer Forschungsbedarf besteht hinsichtlich der Frage, welche Faktoren des Produktionsprozesses (Düngung, Sorte, Lagerdauer) sich wie auf die Differenzierung mit elektrochemischen Parametern auswirken.

Im Gegensatz zu den in der Literatur diskutierten Ergebnissen elektrochemischer Messungen an biologischen Proben konnte allein mit dem pH-Wert als differenzierendes Kriterium eine Trennung der gegebenen Varianten erfolgen. Bestätigt sich in weiteren Versuchen, dass der pH-Wert zur Differenzierung genügt, könnte die Methode erheblich vereinfacht werden.

Hinsichtlich der Messungen an Möhren war eine statistisch signifikante Trennung mit elektrochemischen Parametern möglich. Die gleichzeitig in einem anderen Labor vermessenen Proben derselben Herkunft konnten mit denselben Parametern jedoch nicht voneinander getrennt werden. Die Gründe für die differierenden Ergebnisse könnten in der Probenhomogenität oder den unterschiedlichen Methoden liegen. Prinzipiell scheint die elektrochemische Trennung von Möhren und anderen verderblichen Gemüsen schwierig zu sein, weil die Anbaueffekte durch die Lagerungseffekte mutmaßlich überlagert werden.

Wichtigste Grundlagenarbeit zur Verbesserung elektrochemischer Methoden für die Differenzierung von Lebensmittelproben ist es, eine optimale Kombination von Konditionierungsmethode und Redox-Messelektrode zu finden. Im Ergebnis der Untersuchung mit zwei Redox-Messelektroden an Wein sollte untersucht werden, ob bei der Weizenmethode bei Einsatz der beschriebenen optimalen Kombination von Konditionierung und Elektrode (MC 21 + STALLER-Konditionierung) andere Ergebnisse erzielt werden.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass insbesondere die Messung des Redoxpotenzials an biologischen Proben mit erheblichen methodischen Schwierigkeiten behaftet ist. Dies erklärt sicher, warum bisher noch keine praxistaugliche Anwendung von Redoxmessungen an Lebensmitteln existiert, obwohl Versuche hierzu schon seit annähernd 80 Jahren durchgeführt

werden.

Für die Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit sei folgenden Personen herzlich gedankt:

- der Universität Kassel, Fachgebiet Ökologische Lebensmittelqualität und Ernährungskultur, namentlich Herrn J. Kahl, Gaby Mergardt, Frau Prof. A. Meier-Ploeger und Herrn N. Busscher
- Herrn Prof. B. Ludwig vom Fachgebiet Umweltchemie der Universität Kassel
- Katja Roose

7 Literatur

- Atkins, P. (1993): Einführung in die Physikalische Chemie - Ein Lehrbuch für alle Naturwissenschaftler. Weinheim, New York, Basel Cambridge: VCH.
- Benada, J. (2001): Kritik am P-Wert-Konzept aus physiologischer Sicht. Tagungsband: 8. Tagung Elektrochemischer Qualitätstest. 22.-24.02.2001 an der Universität für Bodenkultur Wien. Queichhambach: BTQ - Gesellschaft für Boden, Technik, Qualität.
- Cammann, K. und Galster, H. (1996): Das Arbeiten mit ionenselektiven Elektroden - Eine Einführung für Praktiker. Berlin: Springer.
- Castellan, G. (1971): Physical Chemistry. Reading, Massachusetts: Addison-Wesley Publishing Company.
- Deibner, L. und Morgues, J. (1969): Über die Relativität des Redoxpotenzials in Medien biologischer Herkunft mit begrenztem Potential wie Moste und Weine. Mitt. Klosterneuburg XIX, 289-304
- DIN 17025 (Hrsg.), (2000). DIN EN ISO IEC 17025-Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien. Europäisches Komitee für Normung, Beuth Verlag, Berlin
- DIN 19263 (1989) : Glaselektroden - pH-Messung. Berlin: Beuth Verlag
- DIN 19266 (2000) : Referenzpufferlösungen zur Kalibrierung von pH-Meßeinrichtungen. Berlin: Beuth Verlag
- Eggert, J. (1968): Lehrbuch der physikalischen Chemie. Stuttgart: Hirzel.
- EQC [Elektrochemisches Qualitätsconsulting GmbH] (o.J.): Bedienungsanleitung zum Datalogger SEM 500. Weidenbach: EQC Elektrochemisches Qualitätsconsulting GmbH, Triesdorfer Str. 31A, 91746 Weidenbach
- Elmau, H. (1985) : Bio-Elektronik Vincent. Erfahrungsheilkunde **9**, 695-698
- Fisher, J. (1984) : Measurement of pH. American Laboratory **6**, 54-60
- Hamann, C. und Vielstich, W. (2003): Elektrochemie. Weinheim: Wiley-VCH.
- Heilmann, H. (2001): Wirkung von Lagerungseffekten auf die Möhrenqualität. Tagungsband: 8. Tagung Elektrochemischer Qualitätstest. 22.-24.02.2001 an der Universität für Bodenkultur Wien. Queichhambach: BTQ - Gesellschaft für Boden, Technik, Qualität.
- Heimann, W. und Wissler, K. (1965): Redox-Potential. In: Schormüller, J. (Hrsg.): Analytik der Lebensmittel. Physikalische und physikalisch-chemische Untersuchungsmethoden. Band II, 1. Teil. Berlin, Heidelberg, New York: Springer.
- Hoffmann, M. (1988): Elektro-chemische Merkmale zur Differenzierung von Lebensmitteln. In:

-
- Meier-Ploeger, A. und Vogtmann, H. (Hrsg.): Lebensmittelqualität - ganzheitliche Methoden und Konzepte. Bad Vilbel: Stiftung Ökologie und Landbau.
- Hoffmann, M. (1992): Wie man die Qualität der Lebensmittel jetzt objektiv messen kann. Raum und Zeit **60**, 34-43
- Jezik, K. (1997): Der P-Wert wird von vielen Faktoren beeinflusst. In: Hoffmann, M. (Hrsg.): Vom Lebendigen in Lebensmitteln. Die bioelektronischen Zusammenhänge zwischen Lebensmittelqualität, Ernährung und Gesundheit. Bad Dürkheim: Stiftung Ökologie und Landbau.
- Kaiser, B. (1991): Elektrochemische Produktdifferenzierung am Beispiel Karotten. Diplomarbeit an der FH Weihenstephan, Freising. Freising: unveröffentlicht.
- Keppel, H. (1997): Obst- und Weinbau: Früchte unter Streß? In: Hoffmann, M. (Hrsg.): Vom Lebendigen in Lebensmitteln. Die bioelektronischen Zusammenhänge zwischen Lebensmittelqualität, Ernährung und Gesundheit. Bad Dürkheim: Stiftung Ökologie und Landbau.
- Kollath, W. (1977): Die Ordnung unserer Nahrung. Heidelberg: Haug Verlag.
- Köpke, U. (1994): Nährstoffkreislauf und Nährstoffmanagement unter dem Aspekt des Betriebsorganismus. In: Mayer, J. et al. (Hrsg.): Ökologischer Landbau - Perspektive für die Zukunft. Bad Dürkheim: Stiftung Ökologie und Landbau.
- Kordatzki, W. (1935): Einführung in die rH-Messung. München: F. & M. Lautenschläger G.M.B.H..
- Krautgartner, R. (2001): Vergleichende Untersuchungen des Redoxpotenzials mittels verschiedener Elektroden bei ausgewählten Gemüsesäften. Tagungsband: 8. Tagung Elektrochemischer Qualitätstest. 22.-24.02.2001 an der Universität für Bodenkultur Wien. Queichhambach: BTQ - Gesellschaft für Boden, Technik, Qualität.
- Krautgartner, R. (2002): Elektrochemische Untersuchungen an verschiedenen Gemüsearten im Laufe der Umstellung auf unterschiedliche Produktionssysteme. Tagungsband: 9. Tagung Elektrochemischer Qualitätstest. Lednice: Institut für Gemüsebau und Blumenproduktion der Fakultät für Gartenbau Lednice, Mendel Universität für Land- und Forstwirtschaft Brno, Tschech. Rep..
- Kromidas, S. (Hrsg.) (2000): Handbuch Validierung in der Analytik. Weinheim: Wiley-VCH.
- Mäder, P., Fließbach, A., Dubois, D., Gunst, L., Fried, P. und Niggli, U. (2002) : Soil Fertility and Biodiversity in Organic Farming. Science **296**, 1694-1697

-
- Meier-Ploeger, A., Kalka, E., Felgentreff, U. und Schütz, S. (2003): Abschlussbericht BLE-Projekt "Entwicklung und Erprobung eines sensorischen Schulungskonzeptes zur Verbesserung der handwerklichen Verarbeitung ökologischer Milch- und Getreideerzeugnisse". Witzenhausen: Universität Kassel, Fachgebiet Ökologische Lebensmittelqualität und Ernährungskultur. Unveröffentlicht
- Meier-Ploeger, A., Kahl, J., Busscher, N., Mergard, G., Werries, A., Strube, J., Stolz, Peter, Staller, B., Rahmann, G. und Weihrauch, K. (2004): Abschlußbericht BLE Projekt „Ganzheitliche Untersuchungsmethoden zur Erfassung und Prüfung der Qualität ökologischer Lebensmittel: Stand der Entwicklung und Validierung“. Witzenhausen: Universität Kassel, Fachgebiet Ökologische Lebensmittelqualität und Ernährungskultur. Unveröffentlicht
- Michaelis, L. (1933): Oxydations-Reductions-Potentiale mit besonderer Berücksichtigung ihrer physiologischen Bedeutung. Berlin: Springer.
- Nakvasil, V. (2002): Methodische Untersuchungen zur Bestimmung von Redoxpotenzial bei Pflanzen und pflanzlichen Produkten. Tagungsband: 9. Tagung Elektrochemischer Qualitätstest. Lednice: Institut für Gemüsebau und Blumenproduktion der Fakultät für Gartenbau Lednice, Mendel Universität für Land- und Forstwirtschaft Brno, Tschech. Rep..
- O.V. (2003) : Elektrochemische Untersuchungsmethoden. Ökoland 2
- Petrikova, K. und Komarkova, Z. (2002): Beurteilung von verschiedenen *Achillea* Arten mit Hilfe des Redoxpotenzials. Tagungsband: 9. Tagung Elektrochemischer Qualitätstest. Lednice: Institut für Gemüsebau und Blumenproduktion der Fakultät für Gartenbau Lednice, Mendel Universität für Land- und Forstwirtschaft Brno, Tschech. Rep..
- Petterson, B. (1977) : Vergleichende Untersuchungen von konventionellem und biologisch-dynamischem Anbau mit besonderer Berücksichtigung von Erträgen und Qualitäten. Lebendige Erde 5, 174-180
- Rahmann, G., Meier-Ploeger, A., Beck, B., Hagel, I., Hoffmann, M., Strube, J. und Stolz, P. (2003): Ganzheitlichkeit in der Lebensmittelforschung. In: Bewertung von Lebensmitteln verschiedener Produktionsverfahren - Statusbericht 2003. Anlage 4. Berlin: Senat der Bundesforschungsanstalten - Senatsarbeitsgruppe "Qualitative Bewertung von Lebensmitteln aus alternativer und konventioneller Produktion".
- Schäfer, B. (2003): Mündliche Auskunft. Witzenhausen: B. Schäfer, Fa. STATCON (Statistik-Consulting)
- Schubert, E. (1971) : Beurteilung des Lagerverhaltens von Äpfeln auf Grundlage physikalischer

-
- Methoden. Arch. Gartenbau **19**, 29-39
- Schulz, D.G. (2000): Ertrag und Qualität von Kartoffeln im Organischen Landbau. Berlin: Verlag Dr. Köster.
- Skoog, D. und Leary, J. (1996): Instrumentelle Analytik - Grundlagen, Geräte, Anwendungen. Berlin: Springer.
- Staller, B. (2002) : Praktische Einführung in die Konditionierung der Messelektrode MC 21. Arbeitstreffen in Triesdorf/Weidenbach im Oktober 2002. Weidenbach: B. Staller, Fa. EQC
- Staller, B. (2003) : Email vom 03.09.2003. Weidenbach: B. Staller, Fa. EQC
- Vogtmann, H. (1988): Lebensmittelqualität ein ganzheitliches Prinzip. In: Meier-Ploeger, A. und Vogtmann, H. (Hrsg.): Lebensmittelqualität - ganzheitliche Methoden und Konzepte. Karlsruhe: C.F. Müller.
- Wolf, R. (1966): Physikalische Chemie - Eine Einführung für Lehrer und Studierende. Bonn: Ferd. Dummlers Verlag.
- Zeeck, A., Eick, S., Krone, B. und Schröder, K. (2000): Chemie für Mediziner. 4., korrigierte Auflage. München, Jena: Urban & Fischer.

8 Anhang

8.1 Beschreibung des Probenmaterials der Vergleichsversuche

Wörtlich übernommen aus:

MEIER-PLOEGER et al. (2004): Abschlußbericht BLE Projekt „Ganzheitliche Untersuchungsmethoden zur Erfassung und Prüfung der Qualität ökologischer Lebensmittel: Stand der Entwicklung und Validierung“. Witzenhausen: unveröffentlicht.

3 Probenmaterialien (Dir. und Prof. PD. Dr. habil. G. Rahmann, K. Weirauch)

3.1 Einleitung

Das Institut für ökologischen Landbau der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (OEL-FAL, www.oel.fal.de) hat für das Projekt BÖL 02OE170 „Ganzheitliche Untersuchungsmethoden zur Erfassung und Prüfung der Qualität ökologischer Lebensmittel: Stand der Entwicklung und Validierung“ die Probenbeschaffung, -kodierung und -verteilung übernommen. Als neutraler Partner wurde besonders auf die wissenschaftlich sachgerechte und nachvollziehbare Bearbeitung von Blindproben (Kodierung und Dekodierung) durch die Forschungspartner geachtet.

Für die Validierung wurden Proben von Winterweizen und Möhren der Erntejahre 2002 und 2003 verwendet. Die kodierten Proben wurden durch eigene Fahrzeuge und Fahrer direkt bei den Partnern abgeliefert.

Die Dekodierung der Winterweizen- und Möhren-Proben aus der Ernte 2002 fand am 8. Mai 2003 in Witzenhausen auf einer Arbeitsgruppensitzung und für die Proben aus der Ernte 2003 per Fax am 22. Oktober 2003 statt. Vorher haben alle Projektpartner prä-dekodiert und ihre bisherigen Untersuchungsergebnisse belegbar per eMail oder Fax an das Institut für ökologischen Landbau geschickt. Dort werden sie mit den Rückstellproben archiviert. Die Berichte der einzelnen Partner mit den Analyseergebnissen wurden zusammen mit der Dekodierung an alle geschickt.

3.2 Weizen

Die Proben des Winterweizens stammen aus dem seit 1977 laufenden DOK-Versuch in Therwil/Schweiz (<http://www.FIBL.ch/english/research/annual-crops/dok/index.php>). Dieser Langzeit-Versuchsanbau wurde 1977 vom Forschungsinstitut für Biologischen Landbau in der Schweiz (FIBL Schweiz) begonnen und wird heute zusammen mit der Eidgenössischen Forschungsanstalt für Agrarökologie und Landbau (FAL) betreut (MÄDER et al. 1993, MÄDER

et al. 2002). Proben aus diesem wohl weltweit am besten geführten und dokumentierten DOK-Versuch sind für eine analytische Differenzierung verschiedener Anbausysteme hervorragend geeignet. Der DOK-Versuch umfasst insgesamt fünf verschiedene Anbauvarianten, die in vierfacher Wiederholung vorliegen:

- Konventionell (Integrierte Produktion: mit 1,0 und 0,5 x organischer Mistdüngung)
- Organisch-biologisch (1,4 und 0,7 DGVE pro ha Mistdüngung)
- Biologisch-dynamisch (1,4 und 0,7 DGVE pro ha Mistdüngung)
- Mineralisch gedüngt (NPK in Menge der 1,0 x Mistdüngung konventionell)
- ungedüngt

Die Verfahrensunterschiede liegen in der Düngung und im Pflanzenschutz, nicht in der Fruchtfolge und der Bodenbearbeitung. Insgesamt gibt es 96 Parzellen mit einer Größe von jeweils 100 m² (Foto 1 und 2). Die Anbauvarianten konventionell (IP), organisch-biologisch und biologisch-dynamisch werden im DOK-Versuch noch einmal in zwei Intensitätsstufen der Düngung unterschieden (praxisüblich und reduziert mit halber Aufwandmenge an Mist). Für das Projekt wurden nur die praxisüblichen Düngungsvarianten mit 1,4 DGVE / ha: biologisch-dynamisch mit 1,4 DGVE (D2) und organisch-biologisch (O2) bzw. 1,0 Norm-Mistdüngung der konventionellen (Integrierte Produktion: K2) sowie die Variante der Mineraldüngung (M) und der ungedüngten Variante (N) verwendet.

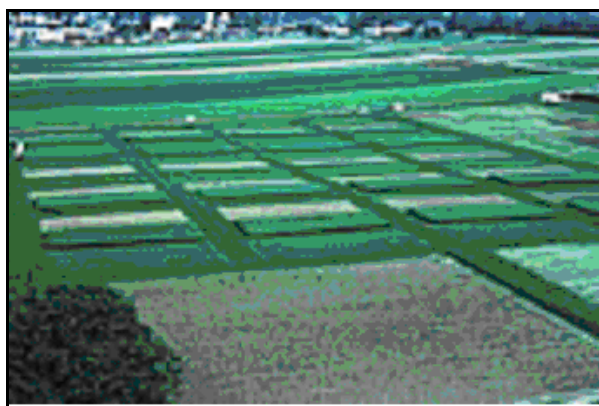


Foto 1: Der DOK-Langzeitversuch verschiedener Anbauverfahren in Therwil, Schweiz (Foto: FIBL, FIBL, Schweiz)
Foto 2: Andere Ansicht des DOK-Versuches (Foto: FIBL, FIBL, Schweiz)

In der seit 1976 nun bereits vierten Folge der siebenjährigen Fruchtfolge wurden für die Periode 1999 bis 2005 die Kulturarten Kartoffeln (Sorte Desiree), Winterweizen (2002: Sorte Tamara; 2003: Sorte Titlis) mit Untersaat, Sojabohnen (Sorte Maple Arrow), Mais (Sorte Magister), Winterweizen (2002: Sorte Tamara; 2003: Sorte Titlis) ohne Untersaat und zweimal Klee gras (Standardmischung 330) verwendet. Im Wirtschaftsjahr 2001/02 wurden Silomais, Kartoffeln und Weizen 1 und 2002/03 Weizen 1, Weizen 2 und Soja angebaut. Die Proben für die Untersuchungen stammen aus den Weizen-1-Anbaufeldern, welche im Jahr 2002 am 24. Juli und im Jahr 2003 am 15./16. Juli geerntet wurden. Die Weizenproben (Korn und Stroh) wurden am 9. August 2002 bzw. 25. Juli 2002 sowie Weizen 2 (Sorte Titlis ohne Untersaat, nur Korn) am 19. August 2003 vom Institut für ökologischen Landbau vom Versuchsbetrieb in der Schweiz abgeholt und nach Trenthorst gefahren (Tab. 1). Die Liefermenge orientierte sich an der Verfügbarkeit aus dem DOK-Versuch.

Wiederholungen	1		2		3		4	
Erntejahr	2002	2003	2002	2003	2002	2003	2002	2003
Ungedüngt (N)	12,00	5,00	11,45	5,00	6,14	5,00	11,60	5,00
Mineralisch gedüngt 1,0 Norm (M)	15,58	5	17,15	5	16,75	5,00	16,00	5,00
Biologisch-dynamisch mit 1,4 DGVE /ha (D2)	13,72	5,00	16,35	5,00	11,43	5	15,82	5,00
Organisch-biologisch mit 1,4 DGVE /ha (O2)	14,10	5,00	16,45	5,00	16,12	5	16,22	5,00
Konventionell IP (K2) 1,0 Norm Mistdüngung	16,50	5,00	16,12	5,00	15,33	5	17,32	5

Tabelle 1: Probenmaterial für Winterweizen aus dem DOK-Versuch für das Erntejahr 2002 und 2003 (kg)

Nach der Ernte wurde der Weizen in der Schweiz von der FAL (Schweiz) aufbereitet und in Jutesäcken in einer großen Halle gelagert. Diese Jutesäcke wurden von Mitarbeitern des Instituts für ökologischen Landbau der FAL (Deutschland) mit einem PKW nach Trenthorst, Schleswig-Holstein, transportiert. Diese Weizenproben wurden dort in den Jutesäcken in einem trockenen Raum bei normaler Raumtemperatur gelagert. Die Raumtemperatur wurde nicht kontinuierlich gemessen.

Im Institut für ökologischen Landbau der FAL in Trenthorst wurden die Proben in kleine Partien für die Partner und für die Rückstellproben abgepackt. Es wurden keine handlungsgenauen Protokolle für die Teilung und Verpackung der Proben geführt. Zur Kontrolle waren immer zwei Mitarbeiter des Instituts an der Verpackung und Kodierung beteiligt. Die Weizenkornproben der 2002-Ernte wurden am 21. Oktober 2002 (2/3 der Probenmenge) und am 24. Februar 2003 (1/3 der Probenmenge) (Tab. 2) innerhalb von 24 Stunden an alle Forschungspartner kodiert abgeliefert. Die korrekte Lieferung wurde per Unterschrift dokumentiert. Die Menge und der Termin wurde im Vorfeld abgestimmt. Die Strohproben wurden nicht verwendet.

Kürzel	Feld- Nummer ¹	KWALIS PA	KWALIS FAS	EQC 1	EQC 2	Kassel
Liefertermin		10-02, 02-03	10-02, 02-03	10-02, 02-03	10-02, 02-03	10-02, 02-03
Ungedüngt (N)	1	A010, A018	A011, A019	A012, A020	A013, A021	A014, A022
	41	A028, A036	A029, A037	A030, A038	A031, A039	A032, A040
	57	B118, A054	B083, A055	D228, A056	E301, A057	D248, A058
	91	B136, A072	D281, A073	E353, A074	A067, A075	E355, A076
Mineralisch gedüngt 1,0 Norm (M)	2	B082, B090	A047, B091	B084, B092	B085, B093	E302, B094
	42	B100, B108	B101, B109	C210, B110	C157, B111	B104, B112
	58	A046, B126	C155, B127	B120, B128	B121, B129	C176, B130
	92	A028, B144	B137, B145	C156, B146	B139, B147	B140, B147
Biologisch-dynamisch mit 1,4 DGVE /ha (D2)	8	C154, C162	B119, C163	B138, C164	B103, C165	C158, C166
	48	C172, C180	C173, C181	C174, C182	C175, C183	B122, C184
	52	D226, C198	E335, C199	C192, C200	C193, C201	C194, C202
	86	D280, C216	C209, C217	B102, C218	D283, C219	C212, C220
Organisch-biologisch mit 1,4 DGVE /ha (O2)	14	C190, D234	D227, D235	A048, D236	D229, D237	D230, D238
	30	E298, D252	D245, D253	D246, D254	D247, D255	A050, D256
	70	D262, D270	D263, D271	E300, D272	D265, D273	D266, D274
	80	C262, D288	A065, D289	D282, D290	C211, D291	D284, D292
Konventionell	20	D244, E206	E299, E207	D264, E308	A049, E309	B086, E310
Integrierte Produktion (K2) 1,0 Norm	36	E316, E324	E317, E325	E318, E326	E319, E327	E320, E328
Mistdüngung	64	E334, E342	C191, E343	E336, E344	E337, E345	E338, E346
	74	E351, E259	E352, E360	A066, E361	E354, E362	A068, E363

¹ Feldnummer der Wiederholung des DOK-Versuchsanbaus in Therwil

DGVE = Düngergroßvieheinheiten

Tabelle 2: Probenkodierung für die Weizenproben der Ernte 2002 und Lieferung an die Forschungspartner im Oktober 2002 und Februar 2003

Die Proben der Ernte 2003 wurden am 15. September an die Partner kodiert verteilt (Tab. 3). Die Kodierung war einfacher gehalten als bei den Proben der Ernte 2002. Auch wurden auf Wunsch an den Partner Kassel bulk-Proben für die Kupferchloridmethoden und Einzelproben für die Polyphenolanalysen der Feldwiederholungen geliefert. Die anderen Partner erhielten wieder Einzelproben. Alle Partner erhielten die gleiche Kodierung. Die Kodierung erfolgte für alle Analyseverfahren gleich. Die bulk-Proben wurden erstellt, indem das Gesamtgewicht der Einzelproben durch die Anzahl der Bestimmungsparameter plus eine für die Rückstellprobe geteilt wurde. Die Einzelproben der Anbauwiederholungen wurden dann für die bulk-Proben zusammengeführt.

Kürzel	Feld- Nummer ¹	KWALIS PA	KWALIS FAS	EQC	Polyphen. Kassel	CuCl ₂ Kassel
Ungedüngt (N)	5	E4	E4	E4	E4	E (bulk)
	39	E3	E3	E3	E3	
	55	E2	E2	E2	E2	
	95	E1	E1	E1	E1	
Mineralisch gedüngt 1,0 Norm (M)	6	D4	D4	D4	D4	D (bulk)
	40	D3	D3	D3	D3	
	56	D2	D2	D2	D2	
	96	D1	D1	D1	D1	
Biologisch-dynamisch mit 1,4 DGVE /ha (D2)	12	C4	C4	C4	C4	C (bulk)
	46	C3	C3	C3	C3	
	50	C2	C2	C2	C2	
	90	C1	C1	C1	C1	
Organisch-biologisch mit 1,4 DGVE /ha (O2)	18	B4	B4	B4	B4	B (bulk)
	28	B3	B3	B3	B3	
	68	B2	B2	B2	B2	
	84	B1	B1	B1	B1	
Konventionell Integrierte Produktion (K2) 1,0 Norm Mistdüngung	24	A4	A4	A4	A4	A (bulk)
	34	A3	A3	A3	A3	
	62	A2	A2	A2	A2	
	78	A1	A1	A1	A1	

¹ Feldnummer der Wiederholung des DOK-Versuchsanbaus in Therwil
 DGVE = Düngergroßvieheinheiten (eine DGVE entspricht ungefähr der Mistanfall von einem Rind mit 500 kg Lebendgewicht)

Tabelle 3: Probenkodierung für die Weizenproben der Ernte 2003 und Lieferung an die Forschungspartner im September 2003

3.3 Möhren

Es gab zwei unterschiedliche Versuche für Möhren. Einerseits sollten, wie beim Winterweizen, unterschiedliche Anbauverfahren und andererseits durch die verwendeten ganzheitlichen Analyseverfahren unterschiedliche Züchtungsstufen identifiziert werden. Da keine Möhren aus dem DOK-Versuch zur Verfügung standen, mussten andere Quellen verwendet werden. So stammten die Proben für die Züchtungsstufen ebenfalls vom Forschungsinstitut für Biologischen Landbau vom Institutsstandort in Frick, Schweiz (www.FIBL.org). Für den Analyse zur Identifikation der Anbauverfahren wurden Möhren aus einem Anbauprojekt auf dem seit 1999 ökologisch bewirtschafteten Versuchsbetrieb der Universität Kassel, Frankenhausen verwendet (www.wiz.uni-kassel.de/dfh.htm).

3.1.1 Möhren für die Untersuchung über die Sorten (FIBL-Möhren)

Die verschiedenen Möhrensorten für die Zuchtstufen stammen aus dem Anbauversuch des FIBL, wo alte und neue Sorten miteinander verglichen werden. Es wurden die Zuchtsorten Samson (OP), Nipomo (F1), Bolero (F1), Tiptop (OP) und Nipomo-C (C-Linie der Nipomo-F1) für das Projekt zur Verfügung gestellt (Tab. 4).

Sorte	Typ	Anzahl Wieder- holungen	Gewicht / Probe	Code: 11.11.02 Lieferung	Code 17.03.03 Lieferung
Samson	OP	4	3 kg	G	H
Nipomo	F1	4	3 kg	F	I
Nipomo	Wiederholung von Nipomo F1		2,6 kg		P
Boléro	F1	4	2,4 kg	E	K
Tiptop	OP	2	3 kg		L
Nipomo C	C-Linie der F+ Sorte	2	3,1 kg		O

Tabelle 4: Möhren für Untersuchungen zum Zuchtstatus vom FIBL 2002 und ihre Kodierung

Nach der Ernte wurden die Möhren in der Schweiz in einem Kühlraum (ungefähr 4°C) gelagert. Die erste Möhrenlieferung für das Projekt wurden am 27. September 2002 aus Frick abgeholt und in einer Gefriertruhe bei 4°C direkt nach Trenthorst gefahren (12 Stunden Fahrzeit). Hier wurden sie zunächst 5 Tage gelagert und dann auf Probenmengen abgepackt. Diese wurden bis zur Verteilung am 11. November 2002 in einer Kühltruhe (rund 4°C) zwischengelagert, bis sie an die Partner verteilt wurden. Diese erste Lieferung umfasst die drei Qualitäten á 16 Möhren der Sorten Samson, Nipomo und Bolero. Sie wurden als bulk-Probe an die Projektpartner kodiert verteilt. Bulk-Proben wurden erstellt, indem das Gesamtgewicht der Einzelproben durch die Anzahl der Bestimmungsparameter plus eine für die Rückstellprobe geteilt wurde. Die Einzelproben der einzelnen Wiederholungen wurden zusammengeführt. Es wurde auf vergleichbare Größe und Anzahl der Möhren pro Probe geachtet. Die zweite Möhrenlieferung aus der Schweiz wurde am 17. März 2003 direkt aus dem dortigen Kühlhaus entnommen, abgepackt und – transportiert in Kühlbehältnissen - direkt an die Partner verteilt (Tab. 4). Das gleiche ist auch bei der letzten Lieferung im Oktober 2003 (Ernte 2003) geschehen (Tab. 5).

Möhrensorte (jeweils 4 Wiederholungen)	kg/Probe	Kodierung
Tiptop	7,2	A
Bolero	7,2	B
Nipomo F1	7,2	C
Samson	7,2	D

Tabelle 5: Kodierung der Möhren aus dem FIBL-Anbau des Anbaujahres

2003

3.1.2 Möhren für die Untersuchung über die Anbauverfahren (Uni-Kassel)

Die Möhren für die Untersuchungen über die Anbauverfahren stammen aus einem Versuch über die Reaktionen von Möhren auf den Anbau auf Dämmen (vs. Flachbeete), und N-Versorgung. Die Versuchspartzellen sind in Streifenanlage auf 18 m² / Parzelle in vierfacher Wiederholung angelegt. Es wurden die Möhren der Sorte Rodelika verwendet, die Vorfrucht war Winterroggen mit der Zwischenfrucht Phacelia, die Vorvorfrucht war Winterweizen. Die Düngungsvariante wurde mit 150 kg N in Form von Hornspänen gedüngt. Der Dammanabstand war 75 cm mit jeweils 3 Reihen Möhren auf einem Damm. Die Pflegeverfahren sind dem Versuchsprogramm zu entnehmen (Fragstein 2003). Für die Proben wurden die Möhren der Anbauvarianten „ohne biologisch-dynamische Spritzpräparate + 150 kg N“ sowie „ohne biologisch-dynamische Spritzpräparate ohne N“ verwendet. Es konnten Möhren aus diesen Anbauvarianten in vierfacher Wiederholung verfügbar gemacht werden. Die Möhren des Anbaujahres 2002 wurden am 16. August geerntet. Die Proben für die Untersuchungen wurden direkt nach der Ernte ohne Zwischenlagerung abgeholt, in den typischen Jutesäcken nach Trenthorst gefahren. Dort wurden sie bis zum Auslieferungstermin wie die Möhren aus der Schweiz gelagert. Am 28. Oktober 2002, 2. Dezember 2002 und am 24. Februar 2003 wurden jeweils 20 Möhren dieses Versuchs in vergleichbarer Qualität an die Projektpartner innerhalb von 24 Stunden verteilt (Tab. 6). und 2003 am 17. September 2003 geerntet, am 27. September 2003 abgeholt und am 29. September 2003 kodiert an die Partner verteilt (Tab. 7).

Liefertermin	Anbauvariante „Ohne biologisch-dynamische Spritzpräparate ...“					
	... plus 150 kg N (Hornmehl)			... ohne Stickstoff-Düngung		
	28.10.02	02.12.02	24.02.03	28.10.02	02.12.02	24.02.03
EQC	M66	M55	M44	M33	M22	M11
KWALIS PA	M66	M55	M44	M33	M22	M11
KWALIS FAS	M66	M55	M44	M33	M22	M11
Kassel	M66	M55	M44	M33	M22	M11

Tabelle 6: Kodierung der Möhren für Untersuchungen über die Anbauverfahren aus dem Versuch Uni Kassel

2002, Frankenhausen

	Anbauvariante „Ohne biologisch-dynamische Spritzpräparate...			
	... plus 150 kg N (Hornmehl)		... ohne Stickstoff-Düngung	
	Code	kg	Code	kg
EQC	M77	6,8	M88	7,5
KWALIS PA	M77	6,4	M88	7,0
KWALIS FAS	M77	7,4	M88	7,5
Kassel CuCl ₂	M77	7,1	M88	7,5
Kassel Polyphenole	M77	7,1	M88	7,5

Tabelle 7: Kodierung der Möhren für Untersuchungen über die Anbauverfahren aus dem Versuch Uni Kassel 2003, Frankenhausen (Verteilt am 29.09.03)

8.2 Dokumentation: Methode zur elektrochemischen Differenzierung von Weizenqualitäten

M 1 Spezifikationen

M 1.1 Geräte

Bezeichnung	Order-Bezeichnung	Hersteller
Ultra-Zentrifugal Mühle	ZM100	Retsch GmbH & Co KG D-42759 Haan
Data-Logger	SEE 500	EQC GmbH D-91746 Weidenbach
Porotrode; pH-Elektrode	Porotrode LL 6.0235.100	Deutsche Metrohm AG D-70772 Filderstadt
Redoxelektrode (Einstab-Meßkette)	Hamilton Polityte Rx 120	Inline Messtechnik GmbH Höchst
Analysenwaage (Genauigkeit 0,001 g)	CP 124 S	Sartorius Göttingen
Labor-Waage (Genauigkeit 0,1 g)	CP 8201	Sartorius Göttingen
Kreisschüttler	Unimax 2010; mit Halter für 500 ml Erlenmeierkolben	Heidolph Instruments
Magnetrührer	MR 3003 control	Heidolph Instruments
Varipette	Varipette 4720	Eppendorf Hamburg
Elektrodenständer	VWR, Typ: STH 650 Best. Nr. 662N0412	VWR International GmbH Hannover
Wasserbad	Umwälzthermostat, Genauigkeit 0,1 °C Typ D10W5P	ThermoHaake
Kurzzeitmesser	Genauigkeit 1 s; elektronisch; mit Count-Down	VWR International GmbH Hannover

M 1.2 Hilfsmittel

Bezeichnung	Order-Bezeichnung	Hersteller
Becherglas - 250 ml	Schott Duran Borosilikat 3.3	Schott
Becherglas, hohe Form - 100 ml	Schott Duran Borosilikat 3.3	Schott
Erlenmeierkolben - 500 ml	Weithals Schott Duran Borosilikat 3.3	Schott
Erlenmeierkolben - 250 ml	Enghals Schott Duran Borosilikat 3.3	Schott
Kristallisierschale - 500 ml	Schott Duran Borosilikat 3.3	Schott
Glasschüssel	passend, um Kristallisierschale abzudecken	
Trichter	Material PP	
Urglas	50 mm Durchmesser	
Laborflasche 25 ml	Borosilikat 3.3	VWR International GmbH
Laborstativ		
Stativring	passend für Trichter	
Faltenfilter	520 b ½ Durchmesser 150 mm	Schleicher & Schuell D-37582 Dassel
Pipettenspitzen 10 ml	Varitip S	Eppendorf
Magnetrührstäbchen	15 mm Länge, PTFE-Beschichtung	
Reinigungstücher	KimWipes Lite Precision Wipes Code 7105	Kimberly-Clark

Bezeichnung	Order-Bezeichnung	Hersteller
Einweg-Handschuhe	SafeSkin Satin Plus Powder-Free Latex Exam Gloves REF SP2330E	Kimberly-Clark
Einwegspritze	5 mm Luer-Konus	
Einwegkanüle	Luer-Ansatz Ø 0,80 mm	
Parafilm	Parafilm M	Brand
Druckluft	3-5 bar Ausblaspistole, kurz	
Pinsel	Flachpinsel, 1,5 cm	
Backpapier	RAL F 74 für Lebensmittel naturbraun	
Probenlöffel	Stahl 18/8	

M 1.3 Chemikalien und Reagenzien

Bezeichnung	Spezifikation	Hersteller
- destilliertes Wasser - Aqua dest.	Spezifikation (@25°C): spez. Widerstand: 18.0 MΩcm Partikel: ≤ 1/ml Pyrogen: < 0.001 Eu/ml TOC: max 5 ppb	Millipore MilliQ Gradient A10
Pufferlösung pH 4,00 (20 °C)	NBS-Standardpufferlösung nach DIN 19266	Merck KG aA Darmstadt
Pufferlösung pH 6,88 (20 °C)	NBS-Standardpufferlösung nach DIN 19266	Merck KGaA D-64271 Darmstadt
Pufferlösung pH 9,18 (20°C)	NBS-Standardpufferlösung nach DIN 19266	Sensortechnik Meinsberg GmbH
Pufferlösung pH 1,68 (20°C)	NBS-Standardpufferlösung nach DIN 19266	Sensortechnik Meinsberg GmbH
Redoxpotenzial Prüflösung	220 mV (25°C) (Pt Ag AgCl in 2 m KCl)	VWR International GmbH
Leitwert-Kalibrierlösung	0,01 mol/L KCl 1,413 mS cm ⁻¹ (25°C)	VWR International GmbH
Elektrolytgel 3 mol/L KCl	Metrohm	Deutsche Metrohm AG
Elektrolytlösung	3 mol/L KCl	VWR International GmbH
Reinigungslösung auf Pepsinbasis		VWR International GmbH
Eisen(II)-chlorid- Tetrahydrat FeCl ₂ · 4 H ₂ O	pro analysi Lagerung im Exsikkator	Merck KGaA D-64271 Darmstadt
Eisen(III)-chlorid- Hexahydrat FeCl ₃ · 6 H ₂ O	pro analysi Lagerung im Exsikkator	Merck KGaA D-64271 Darmstadt

Bezeichnung	Spezifikation	Hersteller
Kaliumchlorid KCl	pro analysi	Merck KGaA D-64271 Darmstadt

M 1.4 Hard- und Softwarespezifikation

	Spezifikation	Hersteller
Personalcomputer	eine freie serielle Schnittstelle 64 MByte RAM Prozessor ab 200 MHz	
Betriebssystem	Windows 98 SE oder höher	Microsoft Inc. http://microsoft.com/
Terminalsoftware	Hyperterminal 6.3	Hilgraeve Inc. http://hilgraeve.com/
Tabellenkalkulation	Microsoft Excel 2000	Microsoft Inc. http://microsoft.com/
ECQ-Tool	mitgeliefertes Excel-Adin zum Datalogger	ECQ GmbH Triesdorf
Statistik-Software	SPSS 11.5	SPSS Inc.

M 1.5 Lösungen

Fe(II)-Lösung: 0,05 molar. 4,971 g Eisen(II)-Chlorid-Tetrahydrat werden auf der Analysenwaage in ein Uhrglas eingewogen, über einen Trichter mit destilliertem Wasser in einen 500 ml Messkolben überspült und bis zur Marke aufgefüllt. Anschließend ist bis zur vollständigen Homogenisierung der Lösung zu schütteln. Die Lösung ist unmittelbar vor der Benutzung frisch anzusetzen.

Fe(III)-Lösung: 0,05 molar. 6,758 g Eisen(III)-Chlorid-Hexahydrat werden auf der Analysenwaage in eine Uhrglasschale eingewogen, über einen Trichter mit destilliertem Wasser in einen 500 ml Messkolben überspült und bis zur Marke aufgefüllt. Anschließend ist bis zur vollständigen Homogenisierung der Lösung zu schütteln. Die Lösung ist unmittelbar vor der Benutzung frisch anzusetzen.

Aufbewahrungslösung (für die pH-Einstabmesskette):

20 ml Pufferlösung, pH 4,00 werden mit 20 ml destilliertem Wasser und 20 ml gesättigter KCl-Lösung versetzt. Der pH-Wert der Lösung beträgt $3,80 \pm 0,02$.

M 2 Reinigung, Überprüfung, Kalibrierung

M 2.1 Glasgeräte

Die Glasgeräte sind in üblicher Weise mit einer Laborspülmaschine zu reinigen.

M 2.2 Sensoren

M 2.2.1 Porotrode

M 2.2.1.1 Lagerung

Bei Nichtbenutzung wird die Porotrode in dem mitgelieferten Köcher in Elektrolytgel gelagert. Vor dem Messen erfolgt ein sorgfältiges Spülen mit destilliertem Wasser.

Bei Pausen zwischen den Messungen von mehr als 2 Minuten ist die Porotrode in ein Becherglas mit Aufbewahrungslösung zu stellen.

M 2.2.1.2 Kalibrierung

Die Durchführung der pH-Kalibrierung erfolgt nach den Vorschriften des Geräteherstellers. Es werden die pH-Puffer 4,01 (Gerät: Puffer 4,01) und 6,88 (Gerät: Puffer 6,86), und zwar in dieser Reihenfolge, verwendet. Die ausgegebenen Kenndaten sollten für die Steilheit im Bereich von -60 bis -57 mV und für die Asymmetrie unter 10 mV liegen. Anschließend erfolgt eine Überprüfung.

Eine Kalibrierung erfolgt bei fehlgeschlagener Überprüfung, mindestens jedoch alle drei Messtage.

Kalibrierung, Elektrodenkenndaten und Puffer-Meßwerte sind zu protokollieren.

M 2.2.1.3 Überprüfung

Die Überprüfung erfolgt mit den Puffern pH = 4,00 pH = 6,88 und pH = 9,18. Die Abweichung darf in Hinblick auf den Tabellenwert (M 7.1) $\pm 0,02$ nicht übersteigen. Ist dies der Fall, muss neu kalibriert werden. Zusätzlich erfolgt eine Prüfung mit dem Eisenstandard (M 2.2.2.2)

Die zur Kalibrierung verwendeten Pufferlösungen (etwa 20 ml) werden in 25 ml Labor-Flaschen gelagert und alle 5 Messtage ausgetauscht.

M 2.2.1.4 Reinigung vor / nach einer Messung

Nach dem Entnehmen der Porotrode aus der Messflüssigkeit oder der Aufbewahrungslösung ist diese sorgfältig mit destilliertem Wasser zu spülen.

M 2.2.1.5 Wartungsreinigung

Bei Schwierigkeiten mit der Kalibrierung, die durch eine Verschmutzung von Kapillare und/oder Glasmembran der Porotrode verursacht sein können, ist die Elektrode in der Pepsin-Reinigungslösung für 2-5 Stunden zu reinigen. Anschließend ist die Porotrode sorgfältig mit destilliertem Wasser zu spülen und für mindestens 1 Stunde im Elektrolytgel zu lagern.

Das Elektrolytgel wird turnusmäßig alle 30 Messtage ausgetauscht. Dazu ist das alte Gel mittels einer Einwegspritze mit Kanüle aus der Porotrode zu entfernen. Danach wird mit einer anderen Spritze die Porotrode zwei Mal mit 3M KCl-Lösung (**Elektrolytlösung**) ausgespült. Anschließend erfolgt eine Neufüllung mit Elektrolytgel. Die Porotrode ist nach Kalibrierung sofort einsatzfähig.

M 2.2.2 Redoxelektrode

M 2.2.2.1 Lagerung / Konditionierung

Vor der Messung des ersten Aliquotes eines neuen Extraktes ist die Elektrode für mindestens 10 min in Redoxpuffer zu stellen.

Bei Nichtbenutzung wird die Redoxelektrode in dem mitgelieferten Köcher in Elektrolytlösung gelagert. Vor dem Messen erfolgt ein sorgfältiges Spülen mit destilliertem Wasser.

M 2.2.2.2 Überprüfung

Die Überprüfung erfolgt mit der Redoxpotenzial-Prüflösung. Der Messwert sollte sich im Bereich von 218 bis 228 mV einstellen. Ist dies nicht der Fall ist die Prüflösung auszutauschen.

Zu Beginn jeden Messtages erfolgt eine Überprüfung mit Eisenstandard. Dazu werden je 30 ml der Fe(II) und Fe(III)-Lösung in einem 100 ml Becherglas vereinigt und pH-Wert, Redoxpotenzial und spezifische Leitfähigkeit gemessen. Folgende Messwerte und Toleranzen sind zu erreichen:

pH-Wert	Redoxpotenzial (mV gegen Ag AgCl in 3 M KCl)	spezifische Leitfähigkeit (mS · cm ⁻¹)
2,88 ... 2,92	733 ... 737	1,86 ... 1,94

M 2.2.2.3 Reinigung vor / nach einer Messung

Nach dem Entnehmen der Redoxelektrode aus der Messflüssigkeit oder der Prüflösung ist diese sorgfältig mit destilliertem Wasser zu spülen.

M 2.2.2.4 Wartungsreinigung

Die Redox-Einstabmesskette besitzt eine wartungsfreie Bezugsselektrode.

M 2.2.3 Leitwert- und Temperaturfühler

M 2.2.3.1 Lagerung

Bei Nichtbenutzung wird der Fühler trocken gelagert. Vor dem Messen erfolgt ein sorgfältiges Spülen mit destilliertem Wasser und Abtrocknen mit einem Reinigungstuch.

M 2.2.3.2 Kalibrierung

Die Durchführung der Kalibrierung erfolgt nach den Vorschriften des Geräteherstellers. Es wird die Leitwert-Kalibrierungslösung $1,41 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ verwendet. Anschließend erfolgt eine Überprüfung. Der in der Tabelle M 7.2 für die jeweilige Messtemperatur angegebene Wert ist mit einer Toleranz von $0,02 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ Genauigkeit zu erreichen.

Eine Kalibrierung erfolgt wenn die Überprüfung ein negatives Ergebnis erbringt.

M 2.2.3.3 Überprüfung

Die Überprüfung des Leitwertsensors erfolgt mit der Leitwert-Kalibrierlösung. Die Abweichung darf $0,02 \text{ mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ nicht übersteigen. Maßgeblich ist die Tabelle bei M 7.2. Zusätzlich erfolgt eine Prüfung mit dem Eisenstandard (M 2.2.2.2)

Die Überprüfung ist alle fünf Messtage vorzunehmen.

M 2.2.3.4 Reinigung vor / nach einer Messung

Nach dem Entnehmen des Sensors aus der Messflüssigkeit oder Kalibrierlösung ist dieser sorgfältig mit destilliertem Wasser zu spülen. Die Plastikhülse ist dazu abzunehmen und separat zu spülen. Fühler und Plastikhülse sind sorgfältig mit einem Reinigungstuch abzutrocknen.

M 3 Probennahme und -lagerung

Die gezogene Probe muss repräsentativ für die beprobte Grundgesamtheit sein. Zweckmäßig ist dazu eine Entnahme an verschiedenen Stellen der Grundgesamtheit (z.B. Getreidehaufen) und eine nachfolgende intensive Mischung. Die Entnahme und Mischung sollten mit einer gereinigten Schaufel aus nichtkorrodierendem Material (z.B. Edelstahl, Plastik) in einem ebenfalls gereinigten Plastikeimer erfolgen. Die entnommene Menge aus der Grundgesamtheit richtet sich nach der Menge der Grundgesamtheit. Insbesondere bei großen Volumina ist darauf zu achten, dass auch der innere Bereich beprobt wird.

Die Lagerung des Samples erfolgt bei $< 70\%$ relativer Luftfeuchte und $< 25\text{ °C}$ in Papiertüten.

Die Weizensample sollten nach Möglichkeit wie Brotgetreide mühlenfertig gereinigt sein. Verunreinigungen durch Fremdgetreide und Beikrautsamen sind zu entfernen. Dazu wird die Probe über ein 2,00 mm Präzisions-Sieb (Retsch) geschüttelt. Der Siebrückstand ist zu verwenden und von Hand weiter von Schwarzbesatz und anderen Verunreinigungen zu reinigen. Dazu wird die Probe flach auf Papier ausgebreitet und handverlesen. Nach der Reinigung sollen in der Probe ausschließlich Getreidekörner vorhanden sein.

Manipulationen am Getreide sind grundsätzlich mit Einweghandschuhen vorzunehmen.

M 4 Mahlen

M 4.1 Vorbereiten des Mahlgutes

In gekennzeichnete 250 ml Bechergläser werden mit der Labor-Waage 210 g [+ 2,5 g]¹ eingewogen. Die Mahlung je Probenart zweimal durchzuführen.

M 4.2 Reinigung der Mühle

Vor jedem Mahlen ist die Mühle sorgfältig zu reinigen. Grobe Verschmutzungen werden mit einem Staubsauger abgesaugt. Anschließend wird mit Druckluft gereinigt. Ein eventueller Film aus feinem Mehl wird unter Druckluft unter Zuhilfenahme eines Papiertuchs oder Pinsels entfernt.

M 4.3 Mahlvorgang

Die Mühle wird mit einem 1,0 mm Sieb bestückt, wobei auf die übereinstimmende Richtung der Pfeile auf Mühle und Sieb zu achten ist. Die Drehzahl wird auf 14.000 min⁻¹ eingestellt und die Mühle gestartet. Nachdem die Mühle ihre Nenndrehzahl erreicht hat (*“load-control”* zeigt zwei Balken) wird das Mahlgut zugeführt, die *“load-control”* schwankt dabei zwischen dem zweiten und dritten Balken. Ein stärkeres Abtounen der Mühle ist unbedingt zu vermeiden; gegebenenfalls ist mit weiterer Mahlgutzugabe zu warten bis die *load-control* wieder die Nenndrehzahl anzeigt.

Nach vollständiger Aufgabe des Mahlgutes wird die Mühle sofort abgeschaltet. Der Mahlgutbehälter wird als Ganzes aus der Mühle genommen und auf ein Backpapier gestellt.

Nun wird das Mehl möglichst quantitativ auf ein Backpapier überführt: Der Deckel des Mahlbehälters wird abgenommen, anhaftende Mehlreste werden vorsichtig mit dem Pinsel auf das Papier überführt. Ebenso verfährt man mit dem Sieb, welches kräftig auf das Papier gestoßen wird. Die Schale wird auf das Backpapier ausgeschüttet, Mehlreste mit dem Pinsel auf das Papier überführt.

M 4.4 Homogenisierung und Lagerung des Mahlgutes

Das Mehl wird vom Backpapier in eine Kristallisierschale überführt und wird mit einem Glasstab homogenisiert. Anschließend wird die Kristallisierschale mit einer passenden Glasschüssel abgedeckt.

¹ Die Werte in eckigen Klammern geben Toleranzen an.

Dieses Weizenmehl kann frühestens nach 24 Stunden und sollte spätestens nach 48 Stunden für die Herstellung eines Extraktes verwendet werden.

M 5 Extraktion

Je Probenart werden acht Extrakte aus zwei Mahlungen (vier Extrakte pro Mahlung) vermessen.

M 5.1 Ansatz

Ein 500 ml Erlenmeyerkolben wird auf die Laborwaage gestellt. Die Waage wird tariert. Folgend werden genau 50,0 g [$+ 0,3$ g] Mehl eingewogen. Folgend ist destilliertes Wasser zuzugeben und zwar zunächst etwa 400 ml. Dabei ist der Kolben intensiv zu schütteln. Gegebenenfalls am Gefäß klebender Bodensatz ist vorsichtig mit einem Glasstab in Suspension zu bringen. Der Glasstab ist anschließend sorgfältig mit destilliertem Wasser in den Kolben zu spülen.

Anschließend wird der Kolben mit destilliertem Wasser aufgefüllt bis das Verhältnis Wasser zu Probeneinwaage genau 1 : 9 beträgt. Der Kolben wird mit Parafilm verschlossen und direkt anschließend mit der Schüttelprozedur begonnen.

M 5.2 Schüttelprozedur

Der Erlenmeyerkolben wird auf den Kreisschüttler gestellt, der auf 30 Minuten Schüttelzeit und $195 [\pm 5] \text{ min}^{-1}$ Schüttelfrequenz eingestellt wird. Gleichzeitig wird der auf 30 Minuten eingestellte Kurzzeitmesser gestartet. Es wird beobachtet, ob das Mehlsediment komplett aufgeschwemmt ist. Sollte das nicht der Fall sein ist die Schüttelfrequenz kurzzeitig auf bis zu 280 min^{-1} zu erhöhen. Diese Geschwindigkeit wird so lange beibehalten, bis kein Sediment mehr vorhanden ist. Dannach wird wieder auf die angegebene Schüttelfrequenz reguliert.

M 5.3 Absetzen

Sofort nach Beendigung der Schüttelprozedur wird der Extrakt in unmittelbare Nähe der Laborwaage gestellt und vor der Filtration nicht mehr bewegt. Anschließend erfolgt eine Absetzzeit von genau 30 Minuten (Kurzzeitmesser).

M 5.4 Filtrieren

Ein 250 ml Erlenmeyerkolben steht auf der Laborwaage, die mit dem Kolben tariert ist. In den Kolben mündet ein Trichter, der im Stativ hängt. Der Trichter ist mit einem Faltenfilter bestückt.

Sofort nach Ende der Absetzzeit wird der Laborwecker mit 30 Minuten gestartet und der Extrakt mit der Varipette in 10 ml Portionen in den Filter überführt. Die Spitze soll beim Aufziehen nicht tiefer als 5 mm in den Extrakt eintauchen. Es werden nach und nach 230 ml Extrakt in den Filter gegeben. Der Extrakt ist so aufzuziehen, dass möglichst kein Bodensatz aufgewirbelt wird.

Nun werden 200 [$+ 1,5$] g Extrakt aufgefangen. Der Rest wird verworfen. Der Erlenmeyerkolben

wird mit Parafilm verschlossen und in ein auf 25°C temperiertes Wasserbad gestellt, wo er bis zum Ende der 30 Minuten stehen bleibt.

M 6 Elektrochemische Messung

Je Extrakt werden drei Extraktaliquote vermessen.

M 6.1 Vorbereiten der Messanordnung

Die Messanordnung besteht aus dem Magnetrührer (400 min^{-1}), hinter dem der Elektrodenständer steht. Die Elektroden sind eingehängt und gereinigt/konditioniert (vgl. Abschnitt M 2 ff.). Auf dem Magnetrührer steht ein Wasserbehältnis.

Die Befestigung des Leitwertfühlers erfolgt an einer der großen Aufnahmen des Ständers. Hierzu wird ein halber Weinflaschenkorken mit einer für das Fühlerkabel passenden Aussparung versehen und der Fühler an seinem Kabel mit dem Korken in den Ständer eingehängt. Das Ende des Fühlers soll etwa in einer Höhe mit dem Ende der Porotrode sein.

Die Plattentemperatur des Magnetrührers wird so eingestellt, dass das Wasser im Wasserbehältnis eine stabile Temperatur von $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$ erreicht. Die Temperatur ist ständig zu kontrollieren.

M 6.2 Überführen des Extraktes

In drei Bechergläser, 100 ml hohe Form, werden revolvierend mit der Varipette je 10 ml Extrakt gegeben, bis jedes Becherglas mit 50 ml Extrakt gefüllt ist. Der Extrakt wird dabei - analog zum Filtrieren - von oben nach unten abpipettiert. Die Bechergläser 2 und 3 werden bis zur Messung ins Wasserbad gestellt.

In den zu messenden Extrakt wird ein mit destilliertem Wasser gespülter und mit einem Papiertuch getrockneter Magnetfisch gegeben.

M 6.3 Messung

Vor Messung eines neuen Extraktes, nicht jedoch zwischen den Messungen der Extraktaliquote, ist die Elektrode für mindestens 10 min in Redoxpuffer zu stellen.

Das Becherglas wird in das Wasserbehältnis gestellt. Anschließend werden die gereinigten Elektroden eingesetzt und der Messvorgang sofort am Datenlogger gestartet. Die Elektroden befinden sich unmittelbar über dem Becherboden, der Magnetfisch berührt aber die Elektroden nicht (keine Geräusentwicklung!).

Die Messdauer beträgt 360 Sekunden. Als Messintervall sind 5 Sekunden einzustellen.

Aus einem Extrakt werden drei Aliquote vermessen.

Die Messdaten werden mittels Hyperterminal direkt in den PC übernommen und in eine Datei abgespeichert.

M 6.4 Auswertung

Die erhobenen Daten werden mit dem ECQ-Tool in Excel übernommen und aufbereitet. Zu jedem Extrakt wird in Excel ein Arbeitsblatt angelegt. Es wird für jedes Extrakt-Aliquot berechnet:

- Median der Messwerte pH, Redoxpotenzial, Leitfähigkeit des Zeitraums 300 bis 360 Sekunden
- das Redoxpotenzial wird auf die Standardwasserstoffelektrode bei 25°C umgerechnet (Addition von 220 mV bei $25^{\circ}\text{C} \pm 0,7\text{mV K}^{-1}$)

Für die statistische Auswertung wird pro Extrakt berechnet:

pH: Mittelwert aus 1. bis 3. Aliquot

Redox: Messwert der Aliquote, jeder für sich

Leitfähigkeit: Mittelwert aus 1. bis 3. Aliquot

Gleiche Varianzen bei pH-Wert und Leitfähigkeit werden dabei vorausgesetzt.

Für jedes Weizensample werden 8 Extrakte aus zwei Mahlungen gemessen. Die pro Extrakt gebildeten Messwerte werden mit Methoden der schließenden Statistik verglichen. Hierbei wird bei vorhandener Normalverteilung der Messwert-Residuen eine ANOVA durchgeführt. Anschließend wird bei vorhandener Varianzhomogenität (Levene-Statistik) ein Tukey-B-Test als Posthoc angeschlossen, andernfalls werden die Unterschiede innerhalb der Qualitäten mittels Tamhane-Test abgesichert. Das Signifikanzniveau beträgt 95%.

Liegt keine Normalverteilung der Residuen vor, erfolgt der Vergleich der Messwerte mittels einem nichtparametrischen Test. Hierzu wird eine Kruskal-Wallis-Statistik berechnet, anschließend gegebenenfalls ein U-Test nach Mann-Whitney für alle Qualitätspaare durchgeführt.

M 7 Tabellen

M 7.1 pH-Werte von NBS-Standard-Pufferlösungen nach DIN 19266 in Abhängigkeit von der Temperatur

Temperatur in °C	Pufferlösung		
	pH 1,68	pH 4,00	pH 6,88
15	1,672	3,999	6,900
20	1,675	4,001	6,881
25	1,679	4,006	6,865
30	1,683	4,012	6,853

M 7.2 Leitfähigkeiten einer 0,01 N KCl-Lösung in Abhängigkeit von der Temperatur

Temperatur in °C	Leitfähigkeit in mS · cm ⁻¹
15	1,147
18	1,225
19	1,251
20	1,278
21	1,305
22	1,332
23	1,359
24	1,386
25	1,413
30	1,552

Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet habe. Die Arbeit hat in gleicher oder ähnlicher Form noch keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegen.

Witzenhausen, den 13. April 2004