Teilprojekt Koordination und Investition

Berichterstatter: Martin Geyer, Karin Hassenberg, Christiane v. Haselberg

1. Koordinationsteam

Ziel des Teilprojektes Koordination und Investition im Rahmen von ProSenso.net2 war die Schaffung der Rahmenbedingungen für die erfolgreiche und effiziente Durchführung der Teilprojekte des achtzehn Partner umfassenden Verbundprojektes. Hierfür wurde ein interdisziplinäres Koordinationsteam installiert. Seine wichtigsten Aufgaben bestanden im Projektmanagement und in der Schaffung von geeigneten Formen der Wissenschaftskommunikation und des Wissenstransfers sowie in Maßnahmen für den Technologietransfer.

Hierzu gehörten die interne und externe Kommunikation, die Organisation von Kolloquien, Statusseminaren und Messeauftritten sowie verbund-übergreifende und themenspezifische Öffentlichkeitsarbeit. Schließlich wurde auch die administrative und haushaltstechnische Durchführung erfolgreich sichergestellt.

2. Investitionen

Im Rahmen von PSn2 wurden verschiedene Investitionen getätigt. Hervorzuheben sind die Hyperspektralkamera, die in TP 1.1 zur Detektion von Fusarium in Getreidebeständen eingesetzt wurde und das Durchflusszytometer mit dessen Implementierung Im Jahr 2007 begonnen wurde. Das Durchflusszytometer konnte durch mehrere Teilprojekte zentral bereitgestellt werden. Die notwendige Erweiterung der Analysekapazitäten des ATB zur projektspezifischen Charakterisierung von Mikroorganismen wurde dadurch realisiert. Die planmäßige Inbetriebnahme erfolgte durch Einbindung hauseigener Kapazitäten sowie durch eine schnelle Einarbeitung des Personals.

3. Wissenstransfer und Nachwuchsförderung

3.1. Wissenschaftskommunikation

Veranstaltungen

In den Jahren 2007 und 2008 erfolgte die Vorstellung der Forschungsergebnisse vorwiegend auf Kolloquien, Workshops und Statusseminaren. Im Jahr 2009 lag der Schwerpunkt auf der Technologietransfer-orientierten Präsentation der Ergebnisse auf den relevanten Fachmessen, um auf diese Weise die Zielgruppen der Arbeiten zu erreichen.

Veranstaltungen intern

- Am 10.01.2007 stellten sich zunächst die Teilprojekte im Rahmen des ATB-internen Institutskolloquiums zum fachlichen Austausch und zur Formierung einer Forschergruppe vor.
- 23.04.2007 Institutskolloquium zur Präsentation der im Bereich der Wertschöpfungskette Getreide angesiedelten Teilprojekte mit Teilnahme der Universität Potsdam zur Vorstellung erster Arbeitsergebnisse.
- Am 02.07.2007 wurde ein Institutskolloquium mit den im Bereich der Wertschöpfungskette "pflanzliche Frischeprodukte" angesiedelten Teilprojekte durchgeführt, unter Einbeziehung der jeweiligen externen Projektpartner.
- Am 24.8.2007 fand die offizielle große Kick Off-Veranstaltung mir allen beteiligten Partnern und dem Projektträger statt.
- Am 02.10.2007 fand ein ganztägiges Statusseminar zum Verbund unter Teilnahme aller Partner am ATB statt. Alle Partner stellten ihre Teilprojekt zur Diskussion vor.
- Am 24.06.2008 wurde erneut ein Kolloquium zu den Teilprojekten im Bereich der Wertschöpfungsketten "Getreide" durchgeführt unter Einbeziehung der externen Projektpartner.
- Ein weiteres Kolloquium fand am 13.06.2008 zu den Teilprojekten "pflanzliche Frischeprodukte" statt. Die externen Projektpartner nahmen hieran teil.

Eigene Veranstaltungen extern

2008 wurde das Statusseminar als offene assoziierte Veranstaltung im Rahmen der Internationalen Konferenz Post Harvest Unlimited 2009 (Berlin, 4.-7.10.2008, 270 Teilnehmer) auf englischer Sprache abgehalten. Dies unterstreicht und unterstützt die Einbindung und Sichtbarkeit des Forschungsverbundes in die internationale Scientific Community.

Veröffentlichungen

Wissenschaftliche Veröffentlichungen

Um erfolgreich den Wissenstransfer des Verbundes zu gewährleisten, wurde frühzeitig eine intensive Publikationstätigkeit aufgenommen. Aus ProSenso.net 2 sind eine Vielzahl von Veröffentlichungen hervorgegangen (wissenschaftliche Veröffentlichungen, Vorträge, Poster und Proceedings (siehe Anhang)).

Bemerkenswerte allgemeine Veröffentlichungen

Im Januar 2007 wurde der Beitrag "ProSenso.net2" in deutscher und englischer Sprache in der Landtechnik, der agrartechnischen Fachzeitschrift mit der größten Reichweite im deutschsprachigen Raum veröffentlicht

 ProSenso.net2 - Erschließung von Nachhaltigkeitspotenzialen durch Nutzung innovativer Sensortechnologien und ganzheitlicher Bewertungsmodelle in der Produktionskette von pflanzlichen Lebensmitteln // Exploration of sustainability potentials by use of sensor-based technologies and integrated assessment models in the production chain of plant related food. Landtechnik 62 (2007), no. 1, pp. 32 - 33, 2 Abb. Für die EU Nachhaltigkeitskonferenz anlässlich der deutschen Ratspräsidentschaft in Leipzig wurde das Thema "Sensor-based technologies and integrated assessment models in food production chains - an approach towards enhanced exploration of sustainability potentials" für einen Vortrag eingereicht. Der Beitrag wurde als Poster-Exponat während der dreitägigen Konferenz "L2L - Sustainable Neighbourhood – from Lisboa to Leipzig through Research" vom 8.-10. Mai 2007 in Leipzig präsentiert.

- Martin Geyer, Annette Prochnow, Oliver Schlüter and Christiane von Haselberg Sensor-based technologies and integrated assessment models in food production chains - an approach towards enhanced exploration of sustainability potentials

Außendarstellung

Pressemitteilungen

- Kampf den Schimmelpilzen mit optischer Sensorik - Potsdamer Chemiker forschen in Verbundprojekt zur Verbesserung der Qualität von Lebens- und Futtermitteln

Pressemitteilung vom 02.02.2007

http://www.idw-online.de/pages/de/news194678

- Mit Sensoren Lebensmittel zukünftig sicherer machen

Pressemitteilung vom 06.11.2009

http://www.idw-online.de/de/news342985

Internet und Logo

Für die professionelle Präsentation des Verbundprojektes PSn2 wurde ein Logo erstellt, damit Identifikations- und Kommunikationsfunktionen erfüllt werden konnten. Abb. 1:



Abb. 1: PSn2 Logo



Abb. 2: Grafische Darstellung der Einbindung der Teilprojekte von PSn2 in die Prozessketten Getreide bzw. Kartoffeln, Obst, Gemüse

Zur Darstellung des Verbundes und der Ziele im Internet wurden zunächst Webseiten mit Basisinformationen unter <u>www.prosenso.net</u> bzw. <u>www.atb-potsdam.de/prosenso</u> etabliert. Am 18. Juli 2007 wurden die neu gestalteten Webseiten von ProSenso.net2 in deutscher und englischer Sprache ins Netz gestellt (www.prosenso.net bzw. www.atb-potsdam. de/prosenso).



Abb. 3: PSn2-Webseiten: Englische Startseite

Messen und Ausstellungen (ausführliche Beschreibung siehe Kap. Technologietransfer)

a) Präsentation von Ergebnissen auf der internationalen Leitmesse für den Fruchthandel FRUIT LOGISTICA, Berlin 4.-6. Februar 2009.

b) Abschließende Ergebnispräsentation des Verbundes auf der AGRITECHNICA 2009, Hannover 8.-14.November 2009.

Integration in Internationale Netzwerke

Das Verbundprojekt ProSenso.net2 gehört zu den großen relevanten nationalen Forschungsverbünden im Bereich Lebensmittelforschung, die durch die europäische Technologieplattform ETP Food for Life als Netzwerkpartner anerkannt wurde (http://etp.ciaa.eu/asp/etp_networks/eu_foodprojects.asp).

Nachwuchsförderung

Die enge Zusammenarbeit und Vernetzung zwischen den Teilprojekten ermöglichte die Formierung einer Forschergruppe aus projektbearbeitenden Nachwuchswissenschaftlern, die im Projektverlauf durch kontinuierlichen intensiven Erfahrungsaustausch weiter zusammenwachsen konnte.

Qualifizierungsarbeiten

Promotionen

Kocsis, Lászlo (Abschluss 08/2008) Betreuende Inst.: Szent Istvan Universität Gödöllö (SZIE), Ungarn Thema der Arbeit: Modellbasierte Regelung von Getreidetrocknern Betreuer am ATB: Mellmann, Jochen Betreuer der Hochschule: Farkas, Istvan Laufende Verfahren (Abschluss 2010 geplant):

Bauriegel, Elke (seit 11/2007) Betreuende Inst.: Humboldt-Universität zu Berlin Thema der Arbeit: Sensorgestützte Detektion von Mykotoxinbildnern im Getreidebau Betreuer am ATB: Herppich, Werner B. und Geyer, Martin Betreuer der Hochschule: Schmidt, Uwe

Fröhling, Antje (seit 09/2006) Betreuende Inst.: TU Berlin Thema der Arbeit: Entwicklung von Biosensoren zur prozessbegleitenden Detekion von humanen und phytopathogenen Mikroorganismen. Schwerpunkt Durchflusszytrometrie. Betreuer am ATB: Schlüter, Oliver Betreuer der Hochschule: Knorr, Dietrich

Hausdorf, Lena (seit 10/2006) Betreuende Inst.: TU Berlin Thema der Arbeit: Entwicklung von Biosensoren zur prozessbegleitenden Detektion von humanen und phytopathogenen Mikroorganismen auf Basis molekulargenetischer Nachweisverfahren Betreuer am ATB: Klocke, Michael Betreuer der Hochschule: Knorr, Dietrich

Hashim, Norhashila (seit 2009) Betreuende Inst.: Universität Putra Malaysia Thema: Kinetic model for chilling injury detection by means of imaging techniques Betreuer am ATB: Zude Manuela

Diplom und Master-Arbeiten

- Lawrence, Iroba Kingsley (MSC), (10/2008): Simulation of grain mass flow in a vertical dryer shaft using the DEM method. Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg
- Sobiella, K. (2008): Molekulare Nachweisverfahren für Arcobacter sp. Diplomarbeit. Technische Universität Berlin.

- Ramminger, N. (2008): Einsatz der Durchflusszytometrie zur Charakterisierung von thermischen und oxidativen Inaktivierungseffekten auf human- und phytopathogene Bakterien in der Nacherntekette. Diplomarbeit. Technische Universität Berlin.
- Baier, M. (2009): Anwendung nichtthermischen Atmosphärendruck-Plasmas auf eine Modellmatrix Inaktivierungskinetiken und durchflusszytometrische Charakterisierung der anti-bakteriellen Wirkung. Diplomarbeit. Technische Universität Berlin.

4. Technologietransfer

Messen und Ausstellungen

I. FRUIT LOGISTICA

Ergebnisse des ProSenso.net Teilprojektes 2.3 "Modulares intelligentes System zur Bestimmung der Resthaltbarkeit frischer Produkte" wurden auf der FRUIT LOGISTICA, der internationalen Leitmesse für den Fruchthandel, Berlin 4.-6. Februar 2009 im Rahmen einer Präsentation von Innovationen zur Qualitätssicherung vorgestellt (Abb. 4).



Abb. 4: Stand des ATB auf der Fruit Logistica 2009; links, Gesamtansicht, rechts, Ausschnitt des Exponats von BAM und ESYS

Ausgestellte Exponate:

- Messung von Temperaturen und Luftfeuchte mit Hilfe von Sensoren (BAM, ESYS)
- SYSMORE, Frischelogger zum Vorhersagen der Resthaltbarkeit (ATB, ESYS)

System zur Modellierung der Resthaltbarkeit von Produkten ATB (M. Linke, D. Baltaci, M. Geyer) ESYS (H. Quaas) BAM (Th. Hübert)

Ein innovatives System zur Modellierung der Resthaltbarkeit von Produkten hilft Verluste verringern, die durch unpassende Verpackung, Lagerung und Transport - auf dem Weg vom Erzeuger zum Verbraucher - verursacht werden.

Bestandteile sind ein von entwickelter Frischelogger vom Leibniz-Institut für (ATB) entwickelte Onlineder Resthaltbarkeit. Das System bestimmt die Produkte vorab, bereits einem spezifischen kontinuierlich Temperatur, erfasst und via Funk zu übertragen. Von diesem



der ESYS GmbH Berlin mit Internetanbindung und das Agrartechnik Potsdam-Bornim Programm zur Modellierung

Resthaltbarkeit der gelagerten während des Transports. Mit Frischelogger werden Luftfeuchte und Lagerungszeit einem Datensammler werden die Daten via

Mobilfunk (GPRS) drahtlos ins Internet zu einem Webserver mit übertragen. Dort erfolgt die Berechnung der aktuellen Qualität und Haltbarkeitsparameter frischer Produkte auf Basis der vom Nutzer eingegebenen Eingangsdaten wie Produktart und Sorte, Reifezustand und Verpackungsart sowie der vom Frischelogger per Funk übermittelten Informationen über Lagerungs- und Transportbedingungen (Temperatur, relative Feuchte, Messzeitpunkt und –dauer).

Die Kenntnis über die Resthaltbarkeit von Produkten kann maßgeblich zur Entscheidungsfindung im Handel beitragen.

Das System wird den Nutzern online zur Verfügung stehen. Es wurde gemeinsam Berlin und dem Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim, der Bundesanstalt für Materialforschung und der ESYS GmbH Berlin im Rahmen des Verbundprojektes ProSenso.net (Förderung BMBF) entwickelt.

Abb. 5: Text im Ausstellungskatalog zur Fruit Logistica 2009

II. AGRITECHNICA

Die Abschlussvorstellung des Verbundes erfolgte auf der AGRITECHNICA 2009 in Hannover

Hierfür wurde ein Stand von der Größe 30 m² (5x6m) im zentralen Bereich für Forschung und Wissenschaft mit Exponaten ausgestattet (siehe Abb. 6).

Als übergeordnetes Thema wurde "Sensorlösungen in der Wertschöpfungskette Getreide" gewählt. Die Ergebnisse der entsprechenden Teilprojekte wurden anhand von Exponaten anschaulich dargestellt.



Abb. 6: PSn2 "Sensorlösungen in der Wertschöpfungskette Getreide" auf der Agritechnica 2009; links oben, Gesamtansicht, rechts oben, Getreidefeuchtemessung am Dächerschachttrockner, links unten, Mykotoxine in Getreide, rechts unten, Fusarium Infektionen im Getreidebestand

- Erkennung von Pilzinfektionen im Pflanzenbestand

Exponat: Miniaturisiertes Getreidefeld (1 m²) mit einem sensorbestückten Traktor (Modell), der kontinuierlich seine Runden zog. Auf einem Hintergrundmonitor lief ein Film zur optischen Darstellung der detektierten mit Fusarium befallenen Flächen.

Parallel dazu wurde an Getreidepflanzen in Töpfen demonstriert (Pflanzen, Sensor, Datenverarbeitung, Bildschirm), welche Information zu erzielen sind.

- Erkennung von Mykotoxinen in Getreide im Nachernteverfahren –

Dargestellt wurde auf einem Poster an welchen Stellen in der Aufbereitungskette die online-Untersuchungen stattfinden sollen. Das Detektionsverfahren wurde an Hand von Mykotoxin belasteten Proben und Analyseverfahren unter einem Mikroskop erklärt.

- Modellgestützte Steuerung der Getreidetrocknung und Qualitätsoptimierung und Minimierung des Energieeinsatzes.

Exponat: Modell eines Getreideschachttrockners (b: 100 x t: 150 x h: 270 cm). Am Modell wurde demonstriert, wie ein Getreideschachttrockner arbeitet und welche Parameter im Rahmen des Projektes optimiert wurden.

- Bewertung des Sensoreinsatzes in der Wertschöpfungskette Getreide

Beschreibung der Vorgehensweise und insbesondere der Resultate die sich in dem Projekt ergeben haben. Auf einer Länge von ca. 3 m wurde anschaulich und beispielhaft die Kette abgebildet und die Bilanz für mehrere Verfahren dargestellt.

Weitere Präsentationselemente: Farbige Drucke mit informativen Kurzdarstellungen der innovativen Lösungen und Infobanner mit Eyecatchern (siehe Anhang).

5. Sonstiges

In den Teilprojekten 1.1 und 2.3 (ab März 2008) kam es im Verlauf des Jahres 2008 zu mehrmonatigen, ungeplanten und unvorhersehbaren Personalengpässen, -ausfällen und - fluktuationen. Diese waren bedingt durch Wechsel der Stelleninhaber zu anderen Arbeitgebern und durch verzögerte Nachbesetzungen, letztere insbesondere aufgrund von Schwierigkeiten, kurzfristig geeignete Fachkräfte zur (Nach-)Besetzung der Stellen zu finden. Die entstandenen Engpässe wurden bestmöglich durch den Einsatz von haushaltsfinanziertem Personal überbrückt, soweit dies leistbar war, wobei zeitliche Verzögerungen nicht ausblieben.

Im Jahr 2009 wurden im TP 2.2 von einer Projektbearbeiterin (Promotionsarbeit) 11 Monate Erziehungszeit in Anspruch genommen. In Absprache mit der Doktorandin wurden die Arbeiten zur Versuchsplanung, Datenauswertung und Publikation unter ihrer Hauptverantwortung weitergeführt, unterstützt durch die Projektleitung und durch haushaltsfinanziertes technisches Personal sowie alle praktischen Arbeiten insb. Laborarbeiten durch eine Diplomandin fortgeführt. Durch diese Personalorganisation konnte hier die termingerechte Bearbeitung des Vorhabens weitgehend gewährleistet werden.

Aus diesen Gründen und aus den Erwägungen heraus noch eine ganze Wachstumsperiode für die Versuche zur Verfügung zu haben, wurde eine kostenneutrale Verlängerung für den gesamten Verbund bis zum Jahresende 2009 beim Projektträger beantragt. Dem Antrag wurde stattgegeben. Die zusätzlichen Erwägungen betrafen das hierdurch ermöglichte vollständige Ausschöpfen der dritten Saison mit den erntebezogenen Versuchen, Datenerhebungen und –auswertungen sowie die abschließende Sensorvalidierung und den Ergebnisabgleich mit den Industriepartnern. Weiterhin wurde hierdurch auch die Präsentation von Projektergebnissen auf der AGRITECHNICA 2009 in Hannover ermöglicht.

Verbundprojekt: Erschließung von Nachhaltigkeitspotenzialen durch Nutzung innovativer Sensortechnologien und ganzheitlicher Bewertungsmodelle in der Produktionskette von pflanzlichen Lebensmitteln

Forschungsvorhaben: 0339992A

Koordination	Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. Max-Eyth-Allee 100 14469 Potsdam Tel.: ++49 (0) 331 / 5699 – 0 Fax: ++49 (0) 331 / 5699 – 849 E-Mail: geyer@atb-potsdam.de Internet: http://www.atb-potsdam.de	Martin Geyer Karl-Heinz Dammer Christine Idler Jochen Mellmann Annette Prochnow Manuela Zude Oliver Schlüter Manfred Linke
Teilprojekt 1.1	Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Berlin und Braunschweig (BBA) Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland Messeweg 11/12 38104 Braunschweig Tel.: ++49 (0) 531 / 299 45 50 Fax: ++49 (0) 531 / 299 30 08 E-Mail: B.Rodemann@bba.de Internet: http://www.bba.de	Bernd Rodemann
Teilprojekt 1.1	SYMACON Bildverarbeitung GmbH Ebendorfer Chaussee 4 39179 Barleben / Magdeburg Tel.: ++49 (0) 39203 / 516 05 Fax: ++49 (0) 39203 / 516 15 E-Mail: info.bv@symacon.de Internet: http://www.symacon.de	Uwe Urbansky
Teilprojekt 1.2	Optimare GmbH Jadestr. 59 26382 Wilhelmshaven Tel.: ++49 (0) 4421 / 755 900 Fax: ++49 (0) 4421 / 755 9011 E-Mail: optimare@optimare.de Internet: http://www.optimare.de	Rainer Schulze
Teilprojekt 1.2	Universität Potsdam Institut für Chemie Karl-Liebknecht-Str. 24-25 14476 Golm Tel.: ++49 (0) 331 / 977 5222 Fax: ++49 (0)331 / 977 5058 E-Mail: loeh@chem.uni-potsdam.de Internet: http://www.chem.uni-potsdam.de	Hans-Gerd Löhmannsröben

Teilprojekt 1.3	PETKUS Technologie GmbH Eisenacherstr. 42 99848 Wutha-Farnroda Tel.: ++49 (0) 36921 / 98267 Fax: ++49 (0) 36921 / 98 456 o. 98 333 E-Mail: p.riedel@petkus.net Internet: http://www.petkus.de	Peter Riedel
Teilprojekt 1.3	TEWS Elektronik GmbH Sperberhorst 10 22459 Hamburg Tel.: ++49 (0) 40 / 555 911 36 Fax: ++ 49 (0) 40/ 552 575 9 E-Mail: udo.schlemm@tews-elektronik.com Internet: http://www.tews-elektronik.com	Udo Schlemm
Teilprojekt 2.1	GbR Control in applied Physiology (CP) Bussardstr. 58 14612 Falkensee Tel.: ++49 (0) 3322 / 2147 74 Fax: ++49 (0) 3322 / 2147 73 E-Mail: beratung@cp-info.de Internet: http://www.cp-info.de	Manuela Zude
Teilprojekt 2.2	Bessy Anwenderzentrum für Mikrotechnik (AZM) Albert-Einstein-Strasse 15 12489 Berlin Tel.: ++49 (0) 30 / 6392 2953 Fax: ++49 (0) 30 / 6392 4682 E-Mail: bernd.loechel@bessy.de Internet: http://www.azm.bessy.de	Bernd Löchel
Teilprojekt 2.2	ELBAU Elektronik Bauelemente GmbH Berlin Darßer Bogen 19 13088 Berlin Tel.: ++49 (0) 30 / 924 042 25 Fax: ++49 (0) 30 / 924 042 92 E-Mail: adamzig@elbau-gmbh.de Internet: http://www.elbau-gmbh.de	Holger Adamzig
Teilprojekt 2.3	ESYS GmbH Schwedter Strasse 34a 10435 Berlin Tel.: ++49 (0) 30 / 44 32 94 – 0 Fax: ++49 (0) 30 / 44 32 94 – 10 E-Mail: holger@esys.de Internet: http://www.esys.de	Holger Quaas

Verbundprojekt ProSenso.net2

Veröffentlichungen

Sammelwerke

- Baltaci, D.; Linke, M.; Geyer, M. (2009): Transpiration loss of fresh produce in transport packages A base for a shelf life prediction model. 6th International Postharvest Symposium, 8-12 April 2009, Antalya Turkey (Proceedings in press).
- Baranyai, L.; Regen, C.; Zude, M. (2009): Monitoring optical properties of apple tissue during cool storage. In: Zude, M. (ed.): Proceedings. 1st International Workshop on Computer Image Analysis in Agriculture held, Potsdam, 27.-28.08.2009, Bornimer Agrartechnische Berichte, Heft 69. Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. Potsdam, 2009, (ISSN 0947-7314), S. 112-119.
- Baranyai, L.; Regen, C.; Geyer, M.; Zude, M. (2009): Application of Monte Carlo simulation in estimation of anisotropy of fruit tissue. In: Zude, M. (eds.): Food Processing, Monitoring Technology in Bioprocesses and Food Quality Management. 5th International Technical Symposium of CIGR on Food Processing, Monitoring Technology in Bioprocesses and Food Quality Management, Potsdam, 31.08.-02.09.2009, Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. Potsdam, 2009, S. 1475-1478.
- Baranyai, L.; Zude, M. (2008): Analysis of laser light migration in apple tissue by Monte Carlo simulation. Progress in Agricultural Engineering Sciences, Vol. 4(1), pp. 45-59. DOI: 10.1556/Progress.4.2008.3.
- Baranyai, L.; Zude, M. (2008): Evaluation of photon migration and laser-induced backscattering in kiwifruit. In: Barreiro, P. (eds.): Proceedings of the. Model-IT 2008 IV International Symposium on Applications of Modelling as an Innovative Technology in the Agri-Food Chain, Madrid, 09.-11.06.2008, Acta Horticulturae Number 802. ISHS, Leuven, (ISSN 0567-7572; ISBN 978 90 6605 641 1), S. 247-250.
- Baranyai, L.; Geyer, M.; Zude, M. (2008): Analysis of laser light distribution in kiwifruit by means of backscattering imaging and simulation. Computer Bildanalyse in der Landwirtschaft, Workshop, Osnabrück.
- Baranyai, L.; Geyer, M.; Zude, M. (2008): Analysis of photon propagation in kiwifruit by means of backscattering imaging and simulation. Bornimer Agrartechnische Berichte 62: 50-57, ISSN 0947-7314.
- Baranyai, L.; Geyer, M.; Zude, M. (2008): Quality assessment of kiwifruits based on laser-induced backscattering. In: Zude, M. (eds.): Book of Abstracts. Postharvest UNLIMITED 2008, Berlin, 04.-07.11.2008, Bornimer Agrartechnische Berichte, Heft 64. Leibniz-Institut für Agrartechnik, Potsdam, (ISSN 0947-7314), S. 148.
- Bauriegel, E.; Giebel, A.; Schmidt, U.; Geyer, M; Herppich, W.B. (2010): Hyperspektrale Bildanalyse zur frühzeitigen Detektion von Taubährigkeit. Bornimer Agrartechnische Berichte. (eingereicht).
- Bauriegel, E.; Beuche, H.; Dammer, K.-H.; Giebel, A.; Herppich, W.B.; Intreß, J.; Rodemann, B. (2009): Determination of head blight on ears of winter wheat by means of hyperspectral and chlorophyll fluorescence image analysis. In: van Henten, E. (eds.): Precision agriculture '09. Joint International Agricultural Conference (JIAC 2009), Wageningen, 06.07.2009-08.07.2009, Wageningen Academic Publishers, Wageningen, the Netherlands, (ISBN: 978-90-8686-113-2), S. 203-210.
- Bauriegel, E.; Herppich, W.B.; Giebel, A.; Dammer, K.-H.; Beuche, H.; Intreß, J., Rodemann, B. (2009): Methods for head blight recognition: chlorophyll fluorescence and hyperspectral image analysis. In: Zude, M. (ed.): Image Analysis for Agricultural Products and Processes - 15. Workshop Computer-Bildanalyse in der Landwirtschaft. 1st International Workshop on Computer Image Analysis in Agriculture held, Potsdam, 27.08.2009-28.08.2009, Bornimer Agrartechnische Berichte. Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. Potsdam-Bornim, (ISSN 0947-7314), S. 176.

- Bauriegel, E.; Jordan, S.; Zeitz, J.; Bauriegel, A.; Rühlmann, J. (2008): Spectral laser scanning microscopy - an attempt for an objective determination of the degree of peat decomposition. In: Farrell, C. (eds.): Chemical, Physical and Biological Characteristics of Peat. 13th International Peat Congress, Tullamore, 08.-13.06.2008, (ISBN 0951489046), S. 117-120.
- Dammer, K.-H. (2010): Kameragestützte Erfassung von Symptomen der Partiellen Taubährigkeit (Fusarium spp.) in Winterweizen, Vorträge 41. DLG Technikertagung 26.-27.1. 2010, S. 123-128.
- Dammer, K.-H.; Möller, B.; Rodemann, B. (2010): Kameragestützte Detektion von Fusarium-Symptomen in Parzellenversuchen. 23. Jahrestagung der DPG-Projektgruppe Krankheiten im Getreide 1.-2.02.2010, abstract online: http://dpg.phytomedizin.org/show_abstracts.html.
- Dammer, K.-H.; Selbeck, J.; Dworak, V.; Möller, B.; Intreß, J.; Rodemann, B. (2010): Erstellen von Binärbildern zur Erfassung von *Fusarium*-Symptomen in Winterweizenfeldern, Bornimer Agrartechnische Berichte. (eingereicht).
- Ditz, M.; Idler, C.; Rasch, C.; Kumke, M.; Walte, A. (2008): Exposure of corn with mould and mycotoxins-detection by sensor technology. In: "Kazimierz Wielki" University in Bydgoszcz (ed.): Proceedings 8 th International Conference "Mycotoxins and Moulds". 8th International Conference "Mycotoxins and moulds", Bydgoszcz, 25.-27.06.2008, Eigenverlag, Bydgoszczy, 2008, (ISBN 978-83-7096-664-5), S. 28.
- Fröhling, A.; Hausdorf, L.; Klocke, M.; Schlüter, O. (2008): Determination of pathogen viability in fruit and vegetable processing by means of flow cytometry. In: Zude, M. (eds.): Book of Abstracts. Postharvest UNLIMITED 2008, Berlin, 04.-07.11.2008, Bornimer Agrartechnische Berichte, Heft 62. Leibniz-Institut für Agrartechnik, Potsdam, (ISSN 0947-7314), S. 27.
- Geyer, M.; Zude, M.; Schlüter, O.(2008): Sensor-based technologies and integrated assessment models in food production chains - an approach towards enhanced exploration of sustainability potentials. Proceedings. International Conference of Agricultural Engineering, Iguassu, 31.08.-04.09.2008, (ISSN 1982-3797),PAP 1030.
- Hausdorf, L.; Fröhling, A.; Nettmann, E.; Schlüter, O.; Klocke, M. (2008): Detection of Arcobacter during processing of vegetables. In: European Society of Agricultural Engineers [Ed.]: Proceedings of the International Conference on Agricultural Engineering & Industry Exhibition AgEng2008 Agricultural and Biosystems Engineering for a Sustainable World, Hersonissos, Crete, Greece, June 23th 25th 2008. Book of abstracts: P-098, Conference proceedings CD: 1176926 [13 Seiten]. [Sammelband-Beitrag].
- Hehmke, M.; Dammer, K.-H.; Herppich, W.B.; Hellebrand, H.-J.; Beuche, H.; Rodemann, B. (2007): Digital image analysis for detection of head blight (*Fusarium* spp.) in winter wheat. In: Bleiholder, H. (eds.): Proceedings of the International Symposium 08-10 October 2007. Agricultural Field Trials - Today and Tomorrow, Stuttgart-Hohenheim, 08.10.2007-10.10.2007, Verlag Grauer, Stuttgart, (ISBN 978-3-86186-541-4), S. 56-61.
- Idler, C.; Rasch, C.; Ditz, M.; Kumke, M.; Walte, A.; Briese, K. (2008): Sensor technology für the indentification of mykotoxins and fungi in the processing of grain-first results. Conference Abstracts "30 th Mycotoxin Workshop 2008". 30. Mykotoxin-Workshop, Utrecht, 28.-30.04.2008, Eigenverlag, Utrecht, 2008, S. 92.
- Iroba, K.L.; Weigler, F.; Mellmann, J.; Metzger, T.; Tsotsas, E. (2009): Modeling of Residence Time Distribution in a Mixed-Flow Grain Dryer using Discrete Element Method (DEM). ProcessNet Jahrestreffen der Fachausschüsse "Agglomerations- & Schüttguttechnik" und "Trocknungstechnik", 11.-13. März, Bad Dürkheim.
- Iroba, K.L.; Weigler, F.; Mellmann, J.; Metzger, T.; Tsotsas, E. (2009): Particle Velocity Profiles and Residence Time Distribution in Mixed-Flow Grain Dryers. In: Proceedings of the 6th International Conference for Conveying and Handling of Particulate Solids (ChoPS), 3 – 7 August, Brisbane, Australia, 79-84.
- Kocsis, L.; Farkas, I.; Mészáros, C.; Teodorov, T.; Mellmann, J. (2009): Moisture Content Distribution Comparison in Pilot and Industrial Mixed-Flow Dryers. In: Proceedings of the 4th Nordic Drying Conference, 17-19 June, Reykjavik, Iceland.
- Kocsis, L.; Schlemm, U.; Richter, H.; Mellmann, J. (2008): Microwave Measurements of the Moisture Content of Wheat with a Prototype Sensor. International Conference on Agricultural Engineering (EurAgEng 2008), 23-25 June, Hersonissos – Crete, Greece.

- Kocsis, L.; Mellmann, J.; Gottschalk, K.; Farkas, I. (2008): Mass Flow Measurements of Grain in a Pilot Mixed-Flow Dryer. International Conference on Agricultural Engineering (EurAgEng 2008), 23-25 June 2008, Hersonissos – Crete, Greece.
- Kocsis, L.; Schlemm, U.; Richter, H.; Mellmann, J.; Farkas, I. (2008): On-line Microwave Measurement of the Moisture Content of Wheat. In: Proceedings of the 17th World Congress of International Federation of Automatic Control (IFAC 2008), July 6-11, Seoul, Korea, 631-635.
- Kocsis, L.; Teodorov, T.; Mellmann, J.; Gottschalk, K.; Mészáros, C.; Farkas, I. (2008): Analysis of Grain Mass Flow Experiments in a Mixed-Flow Dryer. In: Proceedings of the 17th World Congress of International Federation of Automatic Control (IFAC 2008), July 6-11, Seoul, Korea, 1608-1612.
- Kocsis, L., Farkas, I., Mellmann, J., Gottschalk, K., Mészáros, C. (2008) Moisture content fluctuation caused by mass flow in the mixed-flow dryer. In: Proceedings of the 16th International Drying Symposium (IDS 2008), Hyderabad, India, November 9-12, 697-701.
- Kocsis, L.; Teodorov, T.; Mellmann, J. (2007): Effect of the Walls on Grain Mass Flow in Mixed-Flow Dryers. In: Proceedings of the International Conference on Intensifying Poroceedings of Biomaterial Processings (PROBIOM), Sinaia, Romania, 20-23 August, 11 p.
- Linke, M.; Hübert, Th.; Lang, C.; Quaas, H.; Baltaci, D.; Geyer, M. (2008): Modular system for quality monitoring in the logistic chain Shelf life prediction model and sensor technology state of the art. ProSenso.net2 Workshop, Postharvest Unlimited 4.-7. Nov 2008, Berlin. In: ATB Bornimer Agrartechnische Berichte, Heft 64, 2008, S. 15.
- Lang, C.; Hübert, T.; Quaas, H.; Linke, M. (2010): On-line Measurement of Humidity in the Agri-Food Chain. IN: Proceedings of the 3rd International Conference – Postharvest Unlimited 2008, (W.B. Herppich, ed.). Acta Horticulturae 858: 413-417.
- Mellmann, J.; Iroba, K.L.; Metzger, T.; Tsotsas, E. (2010): Gutfeuchte- und Verweilzeit-verteilungen in Dächerschachttrocknern für Getreide. Jahrestreffen des ProcessNet-Fachausschusses Trocknungstechnik, 1.-2. März, Göttingen.
- Mellmann, J.; Iroba, K.L.; Metzger, T.; Tsotsas, E. (2010): DEM modelling of solids transport in mixedflow dryers. In: Proceedings of the 6th World Congress on Particle Technology (WCPT6 2010), 26 – 29 April, Nürnberg, Germany.
- Mellmann, J.; Iroba, K.L.; Möller, B.; Metzger, T.; Tsotsas, E. (2010): Moisture content and residence time distributions in mixed-flow grain dryers. 17th International Drying Symposium (IDS 2010), 3-6 October, Magdeburg, Germany. (eingereicht).
- Mellmann, J., Kocsis, L.; Farkas, I. (2008): Analysis of the dynamic response of a mixed-flow grain dryer on the basis of reversing experiments. In: Proceedings of the International Symposium Reliable Flow of Particulate Solids IV (RELPOWFLO IV), 10-12 June, Tromsø, Arctic Norway.
- Mellmann, J.; Kocsis, L., Gottschalk, K., Mészáros, C., Farkas, I. (2008): Development of the Heat and Mass Transfer Model for Mixed-Flow Grain Dryer. In: Proceedings of the 17th World Congress of International Federation of Automatic Control (IFAC 2008), July 6-11, Seoul, Korea, 9591-9595.
- Mellmann, J.; Kocsis, L.; Gottschalk, K.; Mészáros, C.; Farkas, I. (2008): Model validation for the heat and mass transfer in the mixed-flow grain dryer. Book of Abstracts. International Conference on Agricultural Engineering & Industry Exhibition AgEng2008, Hersonissos, 23.-25.06.2008, Kreta, 2008, S. 75.
- Mellmann, J.; Kocsis, L.; Gottschalk, K.; Mészáros, C.; Farkas, I. (2007): Heat and Mass Transfer in the Mixed-Flow Grain Dryer. In: Proceedings of the International Conference on Intensifying Poroceedings of Biomaterial Processings (PROBIOM), Sinaia, Romania, 20-23 August, 12 p.
- Mellmann, J.; Richter, I.-G.; Maltry, W. (2006): Experiments on hot-air drying of wheat in a semitechnical mixed-flow dryer. In: Proceedings of the 15th International Drying Symposium (IDS 2006), 20-23 August, Budapest, Hungary, 1373-1380.
- Mellmann, J.; Richter, I.-G.; Maltry, W.; Fürll, C. (2006): Modelling of grain drying and experiments at a semi-technical mixed-flow dryer. In: Proceedings of the XVI. CIGR World Congress "Agricultural Engineering for a Better World",3 7 September, Bonn, Germany, 649-650.
- Schlüter, O.; Fröhling, A.; McIntyre, L.; Hudson, A.; Bollington, C. (2008): ISEKI_Mundus a base to foster international exchange of expertise in food safety research. NZMS Conference 2008 Germs and Genomes in the Garden City, 18. 21. November 2008, Christchurch, New Zealand.

- Walter, A.D.; Mertsch, O.; Koehler, Ch.; Adamzig, H.; Hausdorf, L.; Klocke, M.; Froehling, A.; Klocke, S.; Schlueter, O.; Schondelmaier, D.; Loechel, B. (2007): ,Contamination Control of Agricultural Products by On-Chip PCR and Flow Cytometry. (held at the 12th International Commercialization of Micro and Nano Systems Conference 2007, 2-6 September 2007, Melbourne, Australia).
- Zude, M.; Spinelli, L.; Dosche, C.; Torricelli, A.(2009): In-situ analysis of fruit anthocyanins by means of total internal reflectance, continuous wave, and time-resolved spectroscopy. In: Proceedings "SPIE Conference", San Diego, 02.-06.08.2009.

Zeitschriften referiert

- Baranyai, L.; Zude, M. (2009): Analysis of grades and bruising of kiwifruit using laser-induced backscattering imaging. Computers and Electronics in Agriculture 69: 33-39.
- Baranyai, L.; Zude, M. (2008): Analysis of laser light migration in apple tissue by Monte Carlo simulation. Progress in Agricultural Engineering Sciences 4 (1): 45-59.
- Bauriegel, E.; Herppich, W.B.; Giebel, A. Head blight recognition on winter wheat by means of hyperspectral and chlorophyll fluorescence image analysis. Precision Agriculture. (eingereicht).
- Bauriegel, E.; Giebel, A.; Herppich, W.B. Rapid *Fusarium* head blight detection on winter wheat ears using chlorophyll fluorescence imaging. Journal of Applied Botany. (eingereicht).
- Bauriegel, E.; Giebel, A.; Herppich, W.B. Hyperspectral signatures for head blight detection. Computers and Electronics in Agriculture. (eingereicht).
- Dammer, K.-H.; Möller, B.; Rodemann, B.; Heppner, D. Detection of head blight (*Fusarium* ssp.) in winter wheat by digital image analyses. Crop Protection. (eingereicht).
- Romano, G.; Baranyai, L.; Gottschalk, K.; Zude, M. (2008): An approach for monitoring the moisture content changes of drying banana slices with laser light backscattering imaging. Food and Bioprocess Technology, DOI: 10.1007/s11947-008-0113-7.
- Iroba, K.L.; Weigler, F.; Mellmann, J.; Metzger, T.; Tsotsas, E. (2010): Residence Time Distribution in Mixed-Flow Grain Dryers. Drying Technology 28, in press.
- Mellmann, J.; Richter, I.-G.; Maltry, W. (2007): Experiments on Hot-Air Drying of Wheat in a Semi-Technical Mixed-Flow Dryer. Drying Technology 25, 1287-1295.
- Mellmann, J.; Iroba, K.L., Weigler, F.; Metzger, T.; Tsotsas, E. (2010): Particle Velocity Profiles and Residence Time Distribution in Mixed-Flow Grain Dryers. Granular Matter 12, submitted.
- Mellmann, J.; Teodorov, T. (2010): Solids Transport in Mixed-Flow Dryers. Powder Technology 112, submitted.
- Rasch, C.; Böttcher, M.; Kumke, M. (2010): Determination of Aflatoxin B₁ in alcoholic beverages: Comparison of one- and two-photon-induced fluorescence; Analytical and Bioanalytical Chemistry, *397*(1), 87-92.
- Rasch, C.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. (2010): Sensor technology for the identification of mycotoxin producing fungi in the processing of grains; Food and Bioprocess Technology: An International Journal, DOI: 10.1007/s11947-010-0364-y.
- Wulf, J.S.; Rühmann, S.; Regos, I.; Puhl, I.; Treutter, D.; Zude, M. (2008): Nondestructive application of laser-induced fluorescence spectroscopy for quantitative analyses of phenolic compounds in strawberry fruits (Fragaria x ananassa). Journal of Agricultural and Food Chemistry 56 (9): 2875– 2882.
- Zhu, D.Z.; Ji, B.P.; Eum, H.L.; Zude, M. (2009): Evaluation of the non-enzymatic browning in thermally processed apple juice by front-face fluorescence spectroscopy. Food Chemistry 113: 272–279.

Zeitschriften nicht referiert

Baranyai, L.; Zude, M. (2008): Schnelle Qualitätsbewertung von Früchten mit Hilfe der Bildverarbeitung. Landtechnik, 63, pp.156-157.

- Baranyai, L.; Zude, M. (2008): Rapid quality assessment of fruits with machine vision system/ Schnelle Qualitätsbewertung von Früchten mit Hilfe der Bildverarbeitung. Agricultural Engineering/Landtechnik 63: 158-159.
- Geyer, M.; Linke, M.; Gerbert, I.; Schlüter, O.; Kläring, H.-P. (2008): Beurteilen der Haltbarkeit klimakterischer Früchte am Beispiel der Tomate. Landtechnik 63 (3): 158-159.
- Geyer, M.; Schlüter, O.; von Haselberg, C. (2007): ProSenso.net2 Erschließung von Nachhaltigkeitspotenzialen durch Nutzung innovativer Sensortechnologien und ganzheitlicher Bewertungsmodelle in der Produktionskette von pflanzlichen Lebensmitteln // Exploration of sustainability potentials by use of sensor-based technologies and integrated assessment models in the production chain of plant related food. Landtechnik 62, no. 1, pp. 32 33
- Hausdorf, L.; Fröhling, A.; Schlüter, O.; Klocke, M.; Adamzig, H.; Walter, A.D. (2008): Hygieneüberwachung per Chip: Prozessbegleitende Detektion von human- und phytopathogenen Mikroorganismen bei der Aufbereitung von Frischeprodukten. Landtechnik 63 (4): 224-225.
- Idler, C. (2010): Sensortechnik-Mykotoxine online analysieren. LaborPraxis, 34, März, S. 34-35.
- Rasch, C.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. (2008): Mykotoxine in Getreide spektroskopisch erfassen; Nachrichten aus der Chemie, *56*(11), 1154-1158.
- Schlemm, U., Richter, H., Kocsis, L., Mellmann, J. (2008): Feuchtemessung in Weizen mit der Mikrowellen-Resonanzmethode. Mühle + Mischfutter 145 (23), 786-789.
- Steinbrück, D.; Rasch, C.; Kumke, M. (2008): Photophysics of Ochratoxin A in Aqueous Solution; Zeitschrift für Naturforschung, *63b*, 1321-1326.

Studentische Arbeiten

- Böttcher, M. (2009) "Photophysikalische Eigenschaften von Aflatoxin B1 in verschiedenen Lösungsmitteln und Nachweis des Mykotoxins in Weißwein", Bachelorarbeit, Potsdam.
- Iroba, K. L. (2008): Simulation of Solid Mass Flow in a Mixed-Flow Grain Dryer using Discrete Element Method (DEM). Otto-von-Guericke Universität Magdeburg.
- Kocsis, L., Vashishtha, V. (2007): Different types of measurements of the wheat moisture content. Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. (ATB).
- Lenz, S. (2010): Vergleichende Versuche am Dächerschachttrockner mit unterschiedlicher Luftführung. Praktikumsbericht, FH Brandenburg.
- Prosser, P. (2009): Experimentelle Untersuchungen zur Getreidetrocknung an einem Dächerschachttrockner. FHTW Berlin.
- Steinbrück, D. (2008): "Photophysik von Mykotoxinen in komplexen Matrizes: Am Beispiel Ochratoxin A auf Mehl und Getreidekörnern", Diplomarbeit, Potsdam.
- Stiehl, F. (2006): Die Warmlufttrocknung von Weizen in Dünnschichtversuchen und im Dächerschachttrockner. Technische Fachhochschule Berlin.
- Teodorov, T. (2006): Optimierung und Erprobung der Schüttgut-Austragsvorrichtung an einem Getreide-Schachttrockner. Diplomarbeit, Technische Universität Sofia.

Vorträge

- Baltaci, D.; Linke, M.; Geyer, M. (2009): Transpiration loss of fresh produce in transport packages A base for a shelf life prediction model. 6th International Postharvest Symposium, 08.-12.04.2009, Antalya, Türkei.
- Baranyai, L.; Regen, C.; Linke, M.; Zude, M. (2010): Estimating optical properties of apples during controlled atmosphere cool storage. ASABE 2010 Annual International Meeting – Pittsburgh, Pennsylvania USA.
- Baranyai, L.; Regen, C.; Zude, M. (2009): Monitoring optical properties of apple tissue during cool storage. Workshop on Image Analyses in Agriculture, Potsdam-Bornim.

- Baranyai, L.; Regen, C.; Geyer, M.; Zude, M. (2009): Analysis of laser-induced diffuse reflectance in apple tissue during controlled atmosphere cool storage. Lippay-Ormos-Vas Scientific Symposium will be at Corvinus University of Budapest, 28-30. October, Hungary.
- Baranyai, L.; Geyer, M.; Zude, M. (2008): Analysis of photon propagation in kiwifruit by means of backscattering imaging and simulation. 14. Workshop Computer-Bildanalyse in der Landwirtschaft, 07.05.2008, Osnabrück.
- Baranyai, L.; Zude, M. (2008): Evaluation of photon migration and laser-induced backscattering in kiwifruit. Model-IT 2008 IV International Symposium on Applications of Modelling as an Innovative Technology in the Agri-Food Chain, 09.-11.06.2008, Madrid, Spanien.
- Bauriegel, E. (2009): Erkennung der Taubährigkeit bei Weizen mittels Hyperspektral- und Chlorophyllfluoreszenzbildanalyse. Erkennung der Taubährigkeit bei Weizen mittels Hyperspektral- und Chlorophyllfluoreszenzbildanalyse, 22.06.2009, Potsdam.
- Bauriegel, E.; Beuche, H.; Dammer, K.-H.; Giebel, A.; Herppich, W.B.; Intreß, J.; Rodemann, B. (2009): Determination of head blight on ears of winter wheat by means of hyperspectral and chlorophyll fluorescence image analysis. Joint International Agricultural Conference (JIAC 2009), Wageningen, 06.07.2009-08.07.2009, The Netherlands.
- Bauriegel, E.; Beuche, H.; Dammer, K.; Giebel, A.; Herppich, W.; Intreß, J.; Möller, B. (2008): Sensorgestützte Detektion von Mykotoxinbildnern auf dem Feld - Laborversuche. Workshop "Prosenso.net2", 13.06.2008, Potsdam.
- Bauriegel, E.; Beuche, H.; Dammer, K.; Giebel, A.; Herppich, W.; Intreß, J.; Rodemann, B. (2008): Detection of mycotoxin producing fungi in cereal grain crops – Identification of Fusarium-infected wheat plants with digital image processing. Lab experiments. Prosenso.net2 "Sustainable food and feed production chain systems - Sensor-based technologies and integrated assessment models" (Statusseminar), 07.11.2008, Berlin.
- Dammer, K.-H. (2010): Kameragestützte Erfassung von Symptomen der Partiellen Taubährigkeit (Fusarium spp.) in Winterweizen. 41. DLG Technikertagung 26.-27.1. 2010.
- Dammer, K.-H.; Möller, B.; Rodemann, B. (2010): Kameragestützte Detektion von Fusarium-Symptomen in Parzellenversuchen. 23. Jahrestagung der DPG-Projektgruppe Krankheiten im Getreide 1.-2.02.2010, Braunschweig.
- Dammer, K.-H.; Selbeck, J.; Dworak, V.; Möller, B.; Intreß, J.; Rodemann, B. (2010): Erstellen von Binärbildern zur Erfassung von *Fusarium*-Symptomen in Winterweizenfeldern. 04.05.2010, Braunschweig.
- Dammer, K.-H.; Adamek, R.; Bauriegel, E.; Beuche, H.; Giebel, A.; Heppner, D.; Herppich, W.; Intreß, J.; Möller, B.; Rodemann, B.; Urbansky, U. (2008): Sensorgestützte Detektion von Mykotoxinbildnern im Getreidebau. Workshop "Prosenso.net2", 13.06.2008, Potsdam
- Dammer, K.-H. (2008): Sensor-based detection of mycotoxin producing ear diseases in winter wheat (by digital image analysis) at the Annual Meeting of the European Feed Microbiology Organisation, June 28th and 30th.
- Dammer, K.; Bauriegel, E.; Beuche, H.; Herppich, W.; Intreß, J.; Rodemann, B.; Adamek, R.; Giebel, A.; Heppner, D.; Möller, B.; Urbansky, U. (2008): Detection of mycotoxin producing fungi in cereal grain crops – Identification of Fusarium-infected wheat plants with digital image processing. Field experiments. Prosenso.net2 "Sustainable food and feed production chain systems - Sensor-based technologies and integrated assessment models" (Statusseminar), 07.11.2008, Berlin.
- Ditz, M.; Idler, C.; Rasch, C.; Kumke, M. (2009): "Indicators and sensor technology for the identification of mycotoxine producing fungi in the processing of grain", *31. Mykotoxin-Workshop*, Münster, 15. bis 17. Juni 2009.
- Ditz, M.; Idler, C.; Rasch, C.; Kumke, M.; Walte, A. (2008): "Exposure of corn with mould and mycotoxins detection by sensor technology", 8th International Conference Mycotoxins and moulds, Bydgoszcz (PL), 25. bis 27. Juni 2008.
- Fröhling, A.; Hausdorf, L.; Klocke, M.; Schlüter, O. (2008): Determination of pathogen viability in fruit and vegetable processing by means of flow cytometry. Postharvest unlimited, 4. - 7. November 2008, Potsdam, Germany.

- Fröhling, A.; Adamzig, H.; Walter, A.; Hausdorf, L.; Klocke, M.; Schlüter, O. (2008): Biosensors for the detection of pathogenic microorganisms – Concepts for determination of pathogens in fruits and vegetable processing using PCR-techniques and flow cytometry. Postharvest unlimited, 4. - 7. November 2008, Potsdam, Germany.
- Fröhling, A.; Adamzig, H.; Walter, A.; Hausdorf, L.; Klocke, M.; Schlüter, O. (2008): Biosensors for the detection of pathogenic microorganisms - Concepts for determination of pathogens in fruit and vegetable processing using PCR-techniques and flow cytometry. Prosenso.net2 "Sustainable food and feed production chain systems - Sensor-based technologies and integrated assessment models" (Statusseminar), 07.11.2008, Berlin.
- Fröhling, A.; Geyer, M.; Knorr, D.; Ramminger, N.; Schlüter, O. (2008): Einsatzpotenzial der Durchflusszytometrie zur Chargen gerechten Prozessführung bei der Herstellung von leichtverderblichen pflanzlichen Lebensmitteln. ProcessNet-Fachausschuss Lebensmittelverfahrenstechnik, 10. - 14. März 2008, Freising, Deutschland.
- Geyer, M.; Gerbert, I.; Linke, M.; Herppich, W.B.; Kläring, H.-P. (2008): Modelling the shelf life of fruit depending on pre-harvest and post-harvest conditions. Cold-Chain-Management. 3rd International Workshop Cold-Chain-Management. University Bonn, June 2-3, Bonn, Germany.
- Idler, C.; Ditz, M. (2009): Indicators and sensortechnology for the identification of mycotoxin producing fungi in the processing of grain. 31. Mykotoxin-Workshop, 14.-17.06.2009, Münster.
- Idler, C.; Wagner, A. (2009): Storage of wheat in large plastic bags. XVth International Silage Conference, 27.-29.07.2009, Madison, USA.
- Idler, C. (2008): Sensor technology for the identification of mycotoxine and fungi in processing of grain. First results. 30. Mykotoxin-Workshop, 28.-30.04.2008, Utrecht, Niederlande.
- Iroba, K.L.; Weigler, F.; Mellmann, J.; Metzger, T.; Tsotsas, E. (2009): Modeling of Residence Time Distribution in a Mixed-Flow Grain Dryer using Discrete Element Method (DEM). ProcessNet Jahrestreffen der Fachausschüsse "Agglomerations- & Schüttguttechnik" und "Trocknungstechnik", 11.-13. März, Bad Dürkheim.
- Iroba, K.L.; Weigler, F.; Mellmann, J.; Metzger, T.; Tsotsas, E. (2009): Particle Velocity Profiles and Residence Time Distribution in Mixed-Flow Grain Dryers. 6th International Conference for Conveying and Handling of Particulate Solids (ChoPS), 3 – 7 August, Brisbane, Australia.
- Kocsis, L.; Farkas, I.; Mészáros, C.; Teodorov, T.; Mellmann, J. (2009): Moisture Content Distribution Comparison in Pilot and Industrial Mixed-Flow Dryers. 4th Nordic Drying Conference, 17-19 June, Reykjavik, Iceland.
- Kocsis, L.; Mellmann, J.; Gottschalk, K.; Farkas, I. (2008): Mass Flow Measurements of Grain in a Pilot Mixed-Flow Dryer. International Conference on Agricultural Engineering (EurAgEng 2008), 23-25 June 2008, Hersonissos – Crete, Greece.
- Kocsis, L.; Schlemm, U.; Richter, H.; Mellmann, J.; Farkas, I. (2008): On-line Microwave Measurement of the Moisture Content of Wheat. In: Proceedings of the 17th World Congress of International Federation of Automatic Control (IFAC 2008), July 6-11, Seoul, Korea, 631-635.
- Kocsis, L.; Teodorov, T.; Mellmann, J.; Gottschalk, K.; Mészáros, C.; Farkas, I. (2008): Analysis of Grain Mass Flow Experiments in a Mixed-Flow Dryer. In: Proceedings of the 17th World Congress of International Federation of Automatic Control (IFAC 2008), July 6-11, Seoul, Korea, 1608-1612.
- Kocsis, L.; Farkas, I.; Mellmann, J.; Gottschalk, K.; Mészáros, C. (2008): Moisture content fluctuation caused by mass flow in the mixed-flow dryer. 16th International Drying Symposium (IDS 2008), Hyderabad, India, November 9-12.
- Linke, M.; Hübert, Th.; Lang, C.; Quaas, H.; Baltaci, D.; Geyer, M. (2008): Modular system for quality monitoring in the logistic chain Shelf life prediction model and sensor technology. ProSenso.net2 Workshop, Postharvest Unlimited 4.-7. Nov 2008, Berlin.
- Mellmann, J.; Kocsis, L.; Farkas, I. (2008): Analysis of the dynamic response of a mixed-flow grain dryer on the basis of reversing experiments. International Symposium Reliable Flow of Particulate Solids IV (RELPOWFLO IV), 10-12 June, Tromsø, Arctic Norway.

- Mellmann, J.; Iroba, K.; Kocsis, L.; Schlemm, U.; Richter, H. (2008): A new microwave sensor for online measurement of grain moisture content as a core element for reliable process control. Prosenso.net2 "Sustainable food and feed production chain systems - Sensor-based technologies and integrated assessment models" (Statusseminar), 07.11.2008, Berlin.
- Rasch, C.; Ditz, M.; Idler, C.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. (2010): "The use of spectroscopic methods for the detection of mycotoxin producing fungi results of subproject 1.2 of "ProSenso.net²", *32. Mykotoxin-Workshop*, Kopenhagen (DK), 14. bis 16. Juni 2010.
- Rasch, C.; Kumke, M.U.; Löhmannsröben, H.-G. (2009): "Non-invasive determination of mycotoxin producing fungis on grains", *11. Frühjahrssymposium des Jungchemikerforums der GDCh*, Essen, 11. bis 14. März 2009.
- Rasch, C.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. (2009): "Photophysikalischer Nachweis von Mykotoxinen - am Beispiel von Ochratoxin A (OTA) - und Schimmelpilzen auf Getreide", ANAKON 2009, Berlin, 17. bis 20. März 2009.
- Rasch, C.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. (2009): "Sensor technology for the identification of mycotoxin producing fungi in the processing of wheat grain", 5th International Technical Symposium on Food Processing, Monitoring Technology in Bioprocesses and Food Quality Management, Potsdam, 31. August bis 02. September 2009.
- Rasch, C; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. (2008): "Spectroscopic identification of fungis and mycotoxins on grains", *30. Mykotoxin-Workshop*, Utrecht (NL), 28. bis 30. April 2008.
- Romano, G.; Gottschalk, K.; Zude, M.; Baranyai, L. (2008): Analysis of impedance spectra and laser light backscattering intensities of tomato slices during drying process. AgEng2008, OP-1880, 23-25 Jun., Crete.
- Schlüter, O. (2009): Technological trends along the postharvest chain of fresh produce. EFFoST Symposium on Technology of Chilled Food and Fresh-Cut-Products, 09.-10.03.2009, Köln.
- Schlüter, O. (2009): Optische Verfahren und Methoden für die Lebensmittelsicherheit-Ausgewählte Beispiele. Lebens- und Arzneimittelsicherheit, 11.05.2009, Jena.
- Schlüter, O.; Adamzig, H.; Walter, A.D.; Fröhling, A.; Hausdorf, L.; Klocke, M. (2008): Microtechnology for in-situ detection of pathogens during postharvest processing of vegetables. 10th International Congress of Engineering and Food, 20. 24. April 2008, Viña del Mar, Chile.
- Schlüter, O.; Herold, B.; Herppich, W.; Linke, M.; Geyer, M. (2007): Optimierte Verfahrensführung durch den Einsatz neuer Sensortechnologien bei der Produktion frischer pflanzlicher Lebensmittel. ProcessNet VDI-GVC Fachausschuss-Sitzung "Lebensmittelverfahrenstechnik", 15.-16.03.2007, Zürich, Schweiz.
- Walter, A.D.; Mertsch, O.; Adamzig, H.; Fröhling, A.; Hausdorf, L.; Klocke, S.; Klocke, M.; Schlüter, O.; Schondelmaier, D.; Loechel, B. (2007): Contamination control of agricultural products by on-chip PCR and flow cytometry. 12th International Commercialization of Micro and Nano Systems Conference, 2. - 6. September 2007, Melbourne, Australia.
- Zude, M.; Spinelli, L.; Dosche, C. (2009); Torricelli: In-situ analysis of fruit anthocyanins by means of total internal reflectance, continuous wave, and time-resolved spectroscopy. SPIE Conference, 02.-06.08.2009, San Diego, USA.
- Zude, M.; Pflanz, M.; Dosche, C.; Spinelli, L.; Torricelli, A. (2009): Non-invasive analyses of anthocyanins and carotenoids in cherry by means of continuous wave and time-resolved spectroscopy. 5th International Technical Symposium of CIGR on Food Processing, Monitoring Technology in Bioprocesses and Food Quality Management, 31.08. -02.09.2009, Potsdam.
- Zude, M. (2008): Remissions- und Fluoreszenzanalysen an frischen und verarbeiteten gartenbaulichen Produkten. Lebensmittelchemie, 31.01.2008, Berlin.
- Zude, M. (2008): Which sensors are new in science and applicable to horticultural research? SHE First Symposium on Horticulture in Europe, 17.-20.02.2008, Wien, Österreich.
- Zude, M.; Baranyai, L.; Geyer, M. (2008): Assessment and evaluation of risks of quality loss in perishable horticultural produce MC-Simulation approach for improving the feasibility of the new sensor system. Prosenso.net2 "Sustainable food and feed production chain systems Sensor-based technologies and integrated assessment models" (Statusseminar), 07.11.2008, Berlin.

- Zude, M. (2008): What are new sensor principles in science applicable to horticultural. 4th Workshop on Nondestructive Quality Evaluation of Agricultural, Lifestock and Fishery, 25.-26.11.2008, Taipei, Taiwan
- Zude, M. (2008): Optical sensors in precision horticulture. 4th Workshop on Nondestructive Quality Evaluation of Agricultural, Lifestock and Fishery, 25.-26.11.2008, Taipei, Taiwan.

Posterbeiträge

- Baranyai L; Regen C; Geyer M; Zude M (2009): Application of Monte Carlo simulation in estimation of anisotropy of fruit tissue. 5th CIGR Postharvest Symposium, Potsdam, Germany.
- Baranyai, L.; Geyer, M.; Zude, M. (2008): Quality assessment of kiwifruits based on laser-induced backscattering. Postharvest UNLIMITED 2008, 04.-07.11.2008, Berlin.
- Bauriegel, E.; Herppich, W.B.; Giebel, A.; Dammer, K.-H.; Beuche, H.; Intreß, J., Rodemann, B. (2009): Methods for head blight recognition: chlorophyll fluorescence and hyperspectral image analysis. 1st International Workshop on Computer Image Analysis in Agriculture held, Potsdam, 27.08.2009-28.08.2009.
- Bauriegel, E.; Jordan, S.; Bauriegel, A.; Zeitz, J.; Rühlmann, J. (2008): Spectral laser scanning microscopy - an attempt for an objective determination of the degree of peat decomposition. 13th International Peat Congress, 08.-13.06.2008, Tullamore, Irland.
- Ditz, M. (2009): Sensoren zur Detektion von Schimmelpilzen auf Getreide. 11. Fachsymposium Lebensmittelmikrobiologie, 22.-24.06.2009, Wildbad Kreuth.
- Hausdorf, L.; Fröhling, A.; Nettmann, E.; Schlüter, O.; Klocke, M. (2008): Detection of Arcobacter during processing of vegetables. International Conference on Agricultural Engineering (AgEng), 23. - 25. Juni 2008, Crete, Greece.
- Gerbert, I.; Linke, M.; Geyer, M.; Zude, M. (2008): Monitoring and modelling the postharvest behaviour of horticultural produce. 45. Gartenbauwissenschaftliche Tagung Wien.
- Geyer, M.; Zude, M.; Schlüter, O. (2008): Sensor-based technologies and integrated assessment models in food production chains an approach towards enhanced exploration of sustainability potentials. International Conference of Agricultural Engineering, 31.08.-04.09.2008, Iguassu, Brasilien.
- Hausdorf, L.; Fröhling, A.; Nettmann, E.; Schlüter, O.; Klocke, M. (2008): Detection of Arcobacter during processing of vegetables. International Conference on Agricultural Engineering & Industry Exhibition AgEng2008, 23.-25.06.2008, Hersonissos, Griechenland.
- Idler, C.; Walte, A.; Ditz, M.; Plessing-Menze, A.; Briese, K. (2010): "Detection of mould and mycotoxine on grain using a gas Sensor Array", *32. Mykotoxin-Workshop*, Lyngby, Dänemark, 14. bis 16. Juni 2010.
- Idler, C.; Ditz, M.; Rasch, C.; Kumke, M.; Walte, A. (2009): "Sensoren zur Detektion von Schimmelpilzen auf Getreide", *11. Fachsymposium der VAAM-Fachgruppe Lebensmittelmikrobiologie*, Wildbad Kreuth, 22. bis 24. Juni 2009.
- Idler, C.; Rasch, C.; Ditz, M.; Kumke, M. (2008): "Sensor technology for the identification of mycotoxins and fungi in the processing of grain - first results", *30. Mykotoxin-Workshop*, Utrecht (NL), 28. bis 30. April 2008.
- Idler, C.; Jonitz, A.; Kumke, M.; Rasch, C. (2007): "Indicators and sensor technology for the identification of mycotoxin producing fungi in the processing of grain", 29. Mykotoxin-Workshop, Stuttgart-Fellbach, 13. bis 16. Mai 2007.
- Kocsis, L.; Mellmann, J.; Gottschalk, K.; Farkas, I. (2008): Model validation for the heat and mass transfer in the mixed-flow grain dryer. International Conference on Agricultural Engineering & Industry Exhibition AgEng2008, 23.-25.06.2008, Hersonissos, Griechenland.
- Kocsis, L.; Schlemm, U.; Richter, H.; Mellmann, J. (2008): Microwave Measurements of the Moisture Content of Wheat with a Prototype Sensor. International Conference on Agricultural Engineering (EurAgEng 2008), 23-25 June, Hersonissos – Crete, Greece.

- Kocsis, L.; Teodorov, T.; Mellmann, J. (2007): Effect of the Walls on Grain Mass Flow in Mixed-Flow Dryers. International Conference on Intensifying Poroceedings of Biomaterial Processings (PROBIOM), Sinaia, Romania, 20-23 August.
- Mellmann, J.; Iroba, K.L.; Metzger, T.; Tsotsas, E. (2010): Gutfeuchte- und Verweilzeit-verteilungen in Dächerschachttrocknern für Getreide. Jahrestreffen des ProcessNet-Fachausschusses Trocknungstechnik, 1.-2. März, Göttingen.
- Mellmann, J.; Kocsis, L.; Gottschalk, K.; Mészáros, C.; Farkas, I. (2008): Development of the Heat and Mass Transfer Model for Mixed-Flow Grain Dryer. 17th World Congress of International Federation of Automatic Control (IFAC 2008), July 6-11, Seoul, Korea.
- Münchmeyer, W.; Walte, A.; Ungetüm, B.; Idler, C.; Ditz, M. (2010): "Detection of molds on grain using a gas sensor array (Electronic nose)", *The Pittsburgh Conference on Analytical Chemistry and Applied Spectroscopy Pittcon 2010*, 1. bis 4. März 2010 Pittsburgh, Florida, USA, 1690-6P, Book of Abstracts Pittcon 2010, Orlando (USA) 2010.
- Pflanz, M.; Zude, M. (2008): A new method to separate the VIS/NIR-absorption of chlorophylls from fruit spectra of tomato, apple and grapes. SHE First Symposium on Horticulture in Europe, 17.-20.02.2008, Wien, Österreich.
- Rasch, C.; Böttcher, M.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H-G. (2010): "Two-photon-induced fluorescence for the determination of Aflatoxin B1 in alcoholic beverages", *Laser Optics Berlin*, Studententag, 23. März 2010.
- Rasch, C.; Böttcher, M.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H-G. (2010): "Two-photon-induced fluorescence for the determination of Aflatoxin B1 in alcoholic beverages", 32. Mykotoxin-Workshop, Kopenhagen (DK), 14. bis 16. Juni 2010.
- Rasch, C.; Ditz, M.; Idler, C.; Kumke, M. (2009): "Non-invasive detection of selected mycotoxin producing fungis on grains", 4th European Young Investigators Conference, Słubice (PL), 18. bis 21. Juni 2009.
- Rasch, C.; Böttcher, M.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. (2009): "Spectroscopic methods for the analysis of Aflatoxins in alcoholic beverages and foodstuff", *GDCh-Wissenschaftsforum Chemie* 2009, Frankfurt / Main, 30. August bis 02. September 2009.
- Rasch, C.; Böttcher, M.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. (2009): "Spectroscopic proof of Aflatoxin B1 in alcoholic beverages and foodstuff", *Euroanalysis 2009*, Innsbruck (AT), 06. bis 10. September 2009.
- Rasch, C.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. (2009): "Schimmelpilzgifte durch Licht erfassen", 2. Doktorandensymposium der Potsdam Graduate School, Potsdam, 22. September 2009.
- Rasch, C.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. (2009): "Mykotoxinbildner auf Getreide spektroskopisch erfassen", *5. Kolloquium des Arbeitskreises Prozessanalytik in der GDCh-Fachgruppe Analytische Chemie und in der DECHEMA*, Göttingen, 30. November bis 01. Dezember 2009.
- Rasch, C.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. (2008): "Spectroscopic identification of mycotoxins in cereals", 2. interdisziplinäre Doktorandentagung der GDCh, Fachgruppe Analytische Chemie:, Arbeitskreise Chemometrik und Labordatenverarbeitung, Chemo- und Biosensoren, Prozessanalytik, Qualitätsmanagement und Elektroanalytische Chemie, Attendorn, 10. bis 12. Februar 2008.
- Rasch, C.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. (2008): "New spectroscopic insights for the identification of mycotoxins in cereals", 10. Frühjahrssymposium des Jungchemikerforums der GDCh, Rostock, 26. bis 29. März 2008.
- Rasch, C.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. (2008): "Spectroscopic identification of mycotoxins in cereals", *Europact 2008 - 1. European Conference on Process Analytics and Control Technology*, Frankfurt / Main, 22. bis 25. April 2008.
- Rasch, C.; Steinbrück, D.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. (2008): "Spectroscopic properties of Ochratoxin A and B", *30. Mykotoxin-Workshop*, Utrecht (NL), 28. bis 30. April 2008.
- Rasch, C.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. (2008): "Spectroscopic identification of mycotoxins in cereals", *Doktorandensymposium der Potsdam Graduate School*, Potsdam, 09. Dezember 2008.

- Rasch, C.; Steinbrück, D.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. (2007): "Sensor technology for the identification of mycotoxins in cereals", *8. Dresdner Sensor-Symposium*, Dresden, 10. bis 12. Dezember 2007.
- Zude, M.; Hoffmann, T.; Pecenka, R. (2008): Influence of scattering coefficients on linear calibration model based on VIS/NIR spectroscopy in apples, potatoes, and phantoms. International Conference on Agricultural Engineering & Industry Exhibition AgEng2008, 23.-25.06.2008, Hersonissos, Griechenland.
- Zude, M.; Torricelli, A. (2008): Nondestructive pigment analyses in fruit and vegetable by means of combined continuous wave and time-resolved spectroscopy. International Conference of Agricultural Engineering, 31.08.-04.09.2008, Iguassu, Brasilien.
- Zude, M.; Regen, C.; Gebbers, R. (2008): Site-specific fruit maturity monitoring using IS/NIR-spectroscopy. Postharvest UNLIMITED 2008, 04.-07.11.2008, Berlin.



Sensoren für Schimmelpilze in Sicht?



Neue online-Analysemethoden sollen künftig verpilzte und mykotoxinhaltige Getreidepartien bei der Ein- bzw. Auslagerung schnell erkennen – eine Voraussetzung für das gezielte Ausschleusen nicht qualitätsgerechter Partien.



Schimmelpilze wie Fusarium, Aspergillus oder Penicillium auf Roggen und Weizen können mit spektroskopischen Methoden (Reflæcionsspektroskopie) und mittels gassensorischer Messungen (elektronische Nase PEN3) erkannt werden. Pilzgifte (Aflatoxine, Ochratoxin A und Zearalenon) sind mit Hilfe der Lumineszenzspektroskopie nachweisbar.

Ein Sensorsystem mit spektroskopischen und gassensorischen Elementen wird künftig in der Verarbeitungskette von Getreide Schimmelpilze und Mykotoxine detektieren können.







Sensoren zur Steuerung der Getreidetrocknung



Die ungleichmäßige Gutfeuchte erntefrischen Getreides stellt für die kontinuierliche Trocknung nach wie vor ein erhebliches regelungstechnisches Problem dar.



Neuartige Online-Mikrowellensensoren ermöglichen erstmals die direkte, dichte-unabhängige Feuchtemessung sowohl des erntefrischen Getreides am Guteintrag als auch des trockenen Getreides am Gutaustrag.

Durch eine mögliche Nachrüstung bestehender Trocknungsanlagen und die Anwendung in Neuanlagen sind erhebliche wirtschaftliche Effekte zu erwarten.

Vorteile:

- eine verbesserte Verfahrensführung
- gleichmäßigere Trocknung
- Energieeinsparungen bis zu 5%
- Qualitätsverbesserungen

Die Planarsensoren sind so gestaltet, dass sie kettenübergreifend im gesamten Getreide-Nacherntebereich eingesetzt werden können.





Innovative Sensortechnologien in der Produktionskette von pflanzlichen Lebensmitteln

Bei der Erzeugung und im Laufe von Prozessschritten nach der Ernte kann die Sicherheit und Qualität von Getreide und pflanzlichen Frischeprodukten (Obst/Gemüse/Kartoffeln) durch neuartige sensorgestützte Lösungskonzepte nachhaltig verbessert werden.

Technikb ewertun g



Die in ProSenso.net2 entwickelten neuartigen Sensorsysteme können Einsatz finden bei der Online-Bestimmung der Prozess- und Produktqualität.

So lässt sich z.B. durch den Nachweis von Mikroorganismen ein Verderb oder Wertverlust der Produkte vermeiden und das Risiko für die Entstehung von Mykotoxinen mindern.

Kontakt:

Dr. Martin Geyer Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. (ATB) geyer@atb-potsdam.de www.atb-potsdam.de





Bundesministerium für Bildung und Forschung



Sensoren zur Steuerung der Getreidetrocknung

Dieses Projekt ist Teil von ProSenso.net2 "Erschließung von Nachhaltigkeitspotentialen durch Nutzung innovativer Sensortechnologien und ganzheitlicher Bewertungsmodelle in der Produktionskette von pflanzlichen Lebensmitteln"

BMBF-FKZ 0339992A TP 1.3

Projektpartner

- Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam–Bornim e.V. (ATB)
- TEWS Elektronik GmbH, Hamburg
- PETKUS Technologie GmbH, Wutha-Farnroda

Kontakt

Dr.-Ing. Jochen Mellmann jmellmann@atb-potsdam.de Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam–Bornim e.V. (ATB) Max-Eyth-Allee 100, D 14469 Potsdam



Mit den neuartigen Online-Mikrowellensensoren ist erstmals eine dichteunabhängige Feuchtemessung sowohl von erntefrischem als auch trockenem Getreide möglich. In der Praxiserprobung konnten sehr gute Eigenschaften für den künftigen Einsatz in der Trocknersteuerung nachgewiesen werden.

Energie- und Qualitätsverluste durch ungleichmäßige Trocknung

Für Betreiber kontinuierlicher Getreidetrockner stellen die Gutfeuchteschwankungen des erntefrischen Getreides vor der Trocknung nach wie vor ein erhebliches regelungstechnisches Problem dar. Die Steuerungssysteme sind oft nicht in der Lage, diese Feuchteschwankungen während der Trocknung auszugleichen und dabei das Gut auf einheitliche Zielfeuchte zu trocknen. Qualitätseinbußen und wirtschaftliche Verluste sind häufig die Folgen. Während Untertrocknung die Bildung von Schimmelpilzen und Mykotoxinen verursachen kann, führt Übertrocknung zu thermischen Schädigungen des Getreides und zu unnötigem Wasserentzug. Jährlich sind bis zu 4 % der Getreideernte als Nachernteverluste zu verzeichnen - in erheblichem Maße verursacht durch ungleichmäßige Trocknung.

Stand der Technik

Zunehmend setzen die Hersteller von Trocknern zur Prozesssteuerung Sensoren ein, die die Gutfeuchte direkt online messen. Bisher verfügbare Sensoren sind für eine dichteunabhängige Messung im höheren Feuchtebereich nicht geeignet oder nicht flexibel an mehreren Messstellen einsetzbar. Meist werden diese Sensoren nur auf der Trockengutseite, d. h. am Ende der Trocknung, verwendet. Zur Trocknerregelung ist jedoch auch die kontinuierliche Messung der Gutfeuchte vor der Trocknung, also am Guteintrag, erforderlich. Da die Gutfeuchte stark von der Schüttdichte des Getreides abhängt, sollte das Messverfahren dichteunabhängige Feuchtewerte liefern. Als geeignet erscheint das Mikrowellen-Resonatorverfahren, mit dem Feuchte und Masse bzw. Schüttdichte des Getreides gleichzeitig und unabhängig voneinander schnell und präzise ermittelt werden.

Ein Mikrowellensensor zur Feuchtemessung

Gemeinsam mit Fa. TEWS Elektronik, Hamburg, erfolgten Versuche zur Online-Feuchtemessung in Getreide.

MIT UNTERSTÜTZUNG DURCH



Bundesministerium für Bildung und Forschung



Ziel war die Entwicklung von Feuchtesensoren für verschiedene Messpositionen in Getreidetrocknern, z. B. am Guteintrag und am Austrag. Die Signale sollen zur Trocknerregelung geeignet sein. Als Messmethode diente die Mikrowellen-Resonanzmethode.



Planarsensoren, die nach dem Prinzip der Mikrowellen-Resonanzmethode arbeiten.

Ein Mikrowellenresonator hat verschiedene Resonanzfrequenzen, d. h. Frequenzen, bei denen Maxima der Mikrowellentransmission vorliegen. Eine Resonanzkurve wird durch die Resonanzfrequenz und die Halbwertsbreite der Resonanzkurve charakterisiert. Füllt man den Resonator, verändern sich beide Kenngrößen. Bedingt durch eine Wellenlängenverkürzung im Füllgut sinkt die Resonanzfrequenz. Gleichzeitig wird die Resonanzkurve durch dielektrische Verluste im Füllgut verbreitert. Gemessen werden die Änderungen beider Parameter: 1. die Verschiebung der Resonanzfrequenz und 2. die Vergrößerung der Halbwertsbreite der Resonanzkurve. Die Messung zweier voneinander unabhängiger Parameter macht es möglich, zwei Materialeigenschaften zu bestimmen: die Materialfeuchte und die Dichte bzw. die Masse.



Resonanzkurven des leeren und des gefüllten Resonators

Zur Kalibrierung der Sensoren wurden zahlreiche Labormessreihen am ATB an den Getreidearten Weizen, Mais, Roggen, Gerste, Hafer und Triticale in einem jeweils breiten Feuchtebereich durchgeführt. Referenzmethode war die Ofentrocknung nach DIN 10350 bzw. ISO 712.

Praxiserprobung in der Getreidetrocknung

Die entwickelten Sensoren wurden am Technikumstrockner des ATB und an einem industriellen Dächerschachttrockner (Fa. PETKUS, Bild umseitig) getestet. Jeweils ein Mikrowellenresonator wurde hierzu am Guteintrag und –austrag des Trockners installiert.





Praxiserprobung am Technikumstrockner (Gutaustrag), sd=0,55 % w. b. (w. b. = wet basis, bezogen auf feuchtes Gut)

Die Grafik zeigt die Ergebnisse eines Versuchs mit naturfeuchtem Weizen, bei dem ein neunstündiger Dauerbetrieb des Technikumstrockners messtechnisch begleitet wurde. Das eingetragene Material stammte aus zwei verschiedenen Getreidechargen mit unterschiedlichen Feuchten von ca. 15 % w. b. bzw. 18 % w. b. Es konnten sehr gute Eigenschaften der Mikrowellenmessung im Praxiseinsatz nachgewiesen werden. Die Standardabweichung am Guteintrag lag bei 0,22 % w.b., am Gutaustrag bei 0,55 % w.b.

Die neuartigen Online-Mikrowellensensoren ermöglichen erstmals die direkte, dichteunabhängige Feuchtemessung sowohl des erntefrischen Getreides am Guteintrag als auch des trockenen Getreides am Gutaustrag — Voraussetzung für eine verbesserte Verfahrensführung.

Bei Einsatz in der Trocknersteuerung

Die Nutzung der neu entwickelten Online-Mikrowellensensoren in der Trocknersteuerung (am Guteintrag und –austrag) verbessert die Verfahrensführung, vergleichmäßigt die Trocknung und erzielt gleichzeitig Energieeinsparungen bis zu 5 % sowie Qualitätsverbesserungen.

Getreidetrockner werden in großer Stückzahl in Betrieben des Agrarhandels, der Ernährungsindustrie und der Landwirtschaft eingesetzt. Daher werden durch eine mögliche Nachrüstung bestehender Anlagen und die Anwendung in Neuanlagen erhebliche wirtschaftliche Effekte erwartet. Die Planarsensoren sind so gestaltet, dass sie kettenübergreifend im gesamten Getreide-Nacherntebereich eingesetzt werden können.





Sensor based process control for grain drying

This project is part of ProSenso.net2 "Exploration of sustainability potentials by use of sensor-based technologies and integrated assessment models in the production chain of plant related food"

BMBF-FKZ 0339992A TP 1.3

Project partner

- Leibniz Institute for Agricultural Engineering Potsdam–Bornim (ATB)
- TEWS Elektronik GmbH, Hamburg
- PETKUS Technologie GmbH, Wutha-Farnroda

Contact

Dr.-Ing. Jochen Mellmann jmellmann@atb-potsdam.de Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam–Bornim e.V. (ATB) Max-Eyth-Allee 100, D 14469 Potsdam



The novel on-line microwave sensors allow for the first time to directly and density-independently measure the moisture content of both farm-fresh grain at the dryer inlet as well as dry grain at the dryer outlet. Practice trials revealed excellent properties for the future application in process control.

Energy and quality losses due to uneven grain drying

For the operators of continuous grain dryers, the moisture fluctuations of the farm-fresh grain at the dryer inlet are still a considerable control problem. Control systems used so far are often unable to equalize these moisture fluctuations during the drying process and to uniformly dewater the product down the targeted moisture content (m. c.) at the same time. Quality and economic losses are often the consequences. While under-drying may result in the formation of mould and mycotoxins, overdrying causes thermal damages and unneeded water removal. Each year 4 % of the grain yield is lost in postharvest - also due to non-uniform drying.

State-of-the-art

For process control, dryer manufacturers increasingly use sensors for the direct on-line measurement of the grain moisture content. However, the sensors available so far are not suitable for density-independent measurement of the grain moisture or are not flexibly usable at different measuring positions in the dryer. Mostly, they are used at the lower part of the dryer after drying. However, for dryer control the moisture content of the wet farm-fresh grain at the dryer inlet must be known as well. As grain bulk density strongly depends on moisture content a new measuring system should operate density-independent. The microwave resonator technique is a suitable measuring method by the means of which the moisture content and the mass or density of the material can rapidly and precisely be gauged independent of each other at the same time.

Microwave sensor for measuring grain moisture content

In collaboration with TEWS Elektronik Hamburg experiments were conducted for the on-line measurement of grain moisture content. The objective was to develop new

SUPPORTED BY



FUNDED BY



moisture sensors for different measuring positions in the grain dryer, e. g. at the dryer inlet and outlet. As measuring principle the microwave resonator technique was chosen.



Planar sensors based on microwave resonator technique.

A microwave resonator has different resonance frequencies at which maxima of the microwave transmission occur. The resonance curve is characterised by the resonance frequency and the half-width of the resonance curve. When the resonator is filled both parameters are changed. Resonance frequency decreases due to a shortening of the wave length in the material. At the same time, resonance curve is widened due to dielectric losses in the material. During the measurement the changes of both parameters are detected: 1. the shift of the resonance frequency and 2. the increase of the halfwidth of the resonance curve. Measurement of two independent parameters allows to determine two material properties: moisture and the density or mass of the material.



Resonance curves of empty and filled resonator

To calibrate the new sensors numerous laboratory measurements have been conducted at ATB using the grain species wheat, maize, rye, barley, oats, and triticale. In order to provide a wide moisture range in each case, single grain samples were dried and wetted during pretreatment, respectively. Oven-drying was used as reference technique according to DIN 10350 and ISO 712 standards.

Practice tests at grain dryers

Practice tests were conducted at the semi-technical drver test station of ATB and at an industrial mixed-flow dryer (PETKUS corporation, see figure overleaf).

A microwave resonator was installed each at the dryer inlet and discharge.





Practice test at the semi-technical dryer (discharge), sd = 0.55 % w.b. (w.b. = wet basis)

As an example of one practice test with wheat as bed material, the above figure depicts the measuring results at the dryer discharge. In this experiment a nine-hour continuous operation of the dryer was accompanied and detected. The microwave measurements demonstrated very good properties for practical use. Standard deviation amounted to 0.22 % w. b. at the dryer inlet and 0.55 % w. b. at the dryer discharge, respectively.

The novel on-line microwave sensors allow for the first time to directly and densityindependently measure the moisture content of both farm-fresh grain at the dryer inlet as well as dry grain at the dryer outlet offering new possibilities for process control.

Application in dryer control

The application of the new on-line microwave sensors in the dryer control (at the dryer inlet and outlet) improves process regulation, evens the drying process and results in a reduction of energy consumption of up to 5 % as well as in quality increase.

Grain dryers in large numbers are in use in agriculture, in agricultural trade, as well as in food industry. Considerable economic effects will arise by the upgrading of existing equipment and by installing this technology in new facilities. The planar sensors can be utilized in grain along the entire postharvest processing chain.

Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. Agrartechnik Bornim



SYSMORE It`s easy to predict shelf life!



SYSMORE is an innovative decision support system for predicting remaining shelf life of products along the process chain.

SYSMORE helps reducing losses due to inappropriate packaging, storage or transport - from field to consumer.



Part of the SYSMORE system: a specific freshness logger measures continuously temperature, humidity and storage time.

Contact:

Deniz Baltaci Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. (ATB) dbaltaci@atb-potsdam.de www.atb-potsdam.de

Contraction of the second second

Partner in the joint project:







the ball of the state of the

Part of the project:



Sensor-based technologies and integrated assessment models in food production chains

Funded by:



Teilprojekt 1.1 "Sensorgestützte Detektion von Mykotoxinbildnern im Getreidebau"

Berichterstatter: Karl Heinz Dammer, Elke Bauriegel

Projektbearbeiter: Rolf Adameck, Horst Beuche, Hartmut Böttger, Antje Giebel, Daniel Göring, Dirk Heppner, Werner B. Herppich, Joachim Intreß, Bernd Möller, Bernd Rodemann, Bernd Urbansky, Katrin Witzke

Teil I Kurzdarstellung

I.1. Aufgabenstellung

Die mykotoxin-bildende Pilzgattung *Fusarium* ist eine gefährliche Ährenkrankheit ("Partielle Taubährigkeit") des Getreides, da der Pilz giftige Stoffwechselprodukte im Getreidekorn bilden kann. Bei Weiterverarbeitung des Getreides zu Nahrungs- und Futtermitteln kann sich daraus eine Gefahr für die Gesundheit von Mensch und Tier ergeben. Die Entwicklung, Einführung und Nutzung automatischer Erfassungs- und Dokumentationssysteme zur gezielten Bestimmung der Ausgangsbelastung des Ernteproduktes mit diesem pilzlichen Pflanzenpathogen könnte einer gesundheitlichen Gefahr für Mensch und Tier entgegenwirken.

Die Kenntnis von Ort und Stärke eines Befalles im Feld würde dem Landwirt in Zukunft nutzen, befallene Partien außerhalb des Lebensmittelbereiches separat der Vermarktung zuzuführen (z.B. Biogas, Biomasseheizung). Außerdem wäre dann eine gezielte Stichprobennahme für die chemischen Analyse des Mykotoxingehaltes und dadurch eine Effizienzsteigerung der äußerst kostenintensiven Kontrollmethoden im Labor möglich.

Ziel des Teilprojektes war es zu testen, ob die Symptome einer *Fusarium*-Infektion an Winterweizenähren im Feld, trotz auftretender natürlicher Störeinflüsse, mittels optischer Sensortechnik und anschließender Bildverarbeitung detektiert werden können. Als Detektionsmethoden sollten die Infrarotbildanalyse/Thermographie, die Chlorophyllfluoreszenz, die Farbbildanalyse und die multi- sowie hyperspektrale Bildanalyse eingesetzt werden. Dazu war ein Trägerfahrzeug-gestütztes Messwerterfassungssystem (Prototyp) für Feldmessungen aufzubauen. Die Firma SYMACON übernahm die Aufgabe einen Algorithmus zur Bildverarbeitung zu entwickeln und unter der Windows-Oberfläche ein computergestütztes Auswerteprogramm zu erstellen.

I.2. Voraussetzungen, Planung und Ablauf des Vorhabens

Optische Messverfahren eignen sich besonders für den Einsatz auf Landmaschinen, da diese berührungslos und zerstörungsfrei arbeiten.

Eine schnelle Befallsdetektion an der Pflanze mit optischen Methoden setzt die Kenntnis krankheitsbedingter spektraler Signaturen in den relevanten Spektralbereichen vom Blau bis zum Nahen Infrarot voraus. Dazu wurde ein Messplatz für hyperspektrale Bildaufnahmen

von infizierten Pflanzenproben entwickelt und aufgebaut. Mit Hilfe von zwei hyperspektralen Bildscannern wurden von gesunden und mit *Fusarium* befallenen Ähren über den Wellenlängenbereich von 400 bis 1000 nm bzw. 900 bis 1700 nm Bilder generiert. Mit dem *Fusarium*-Pilz künstlich infizierte Weizenpflanzen lieferte das Julius-Kühn-Institut in Braunschweig. Ziel war es, charakteristische Wellenlängenbereiche zu finden, mit deren Hilfe sich krankes und gesundes Ährengewebe unterscheiden lässt. In den Laborversuchen kamen außerdem noch Chlorophyllfluoreszenz- und hyperspektrale Bildaufnahmetechniken zur Anwendung, um mit dem *Fusarium*-Pilz erkranktes Ährengewebe von gesundem zu unterscheiden.

In Getreidefeldern tritt nicht jedes Jahr *Fusarium*-Befall an der Ähre auf. Aus diesem Grund und zur Bereitstellung von Befall unterschiedlicher Stärke wurden Kameraaufnahmen in künstlich infizierten Sortenversuchen durchgeführt. Diese Freilandversuche wurden einmal auf dem Versuchsfeld des Julius-Kühn-Institutes in Sikte bei Braunschweig und auf Flächen des ATB durchgeführt.

Im letzten Projektjahr 2009 wurden insgesamt 15 Winterweizensorten mit unterschiedlichen *Fusarium*-Anfälligkeiten in 4-facher Wiederholung durch Mitarbeiter des Julius-Kühn-Institutes auf einer Fläche des ATB ausgesät. Die Parzellen der unbehandelten Kontrolle (Wiederholung 1 und 2) und die künstlich infizierten Parzellen (Wiederholung 3 und 4) waren durch einen etwa 20 m breiten Korridor getrennt. (Abb.1).

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
	1 Drilispur Rand WW																	
Füll-				TIM									TIW					Füll-
parzell	1.1	2.1	3.1	1/1	4.1	5.1	6.1	7.1	8.1	9.1	10.1	11.1	2/1	12.1	13.1	14.1	15.1	parzell
E E Ul-																		e Füll-
parzell	10.2	8.2	6.2	11.2	9.2	5.2	7.2	4.2	TIW	2.2	3.2	1.2	TIW	15.2	13.2	12.2	14.2	parzell
e									1/2				2/2					e
	1 Drillspur Rand WW																	
								1 Drills	pur Ra	nd WW								
Füll-				TIM									TIW					Füll-
parzell	2.4	1.4	3.4	1/4	11.4	6.4	5.4	9.4	4.4	8.4	7.4	10.4	2/4	15.4	14.4	13.4	12.4	parzell
e				-									L					i e
Full-	0.2	10.2	0.2	4.2	72	6.2	5.2	11.2	TIW	2.2	12	2.2	TIW	15.2	12.2	12.2	14.2	Full-
e	9.5	10.5	0.5	4.5	1.5	0.5	5.5	11.5	1/3	2.3	1.5	3.5	2/3	15.5	12.5	15.5	14.5	e
1 Drillspur Rand WW																		
1	2	3	4	5	6	7	0	•	40	44	40	40		45	40	47		

Abb. 1: Aussaatplan des Feldversuches 2009 (WW: Winterweizen, TIW: Trennparzelle Triticale)

Jede Parzelle war 3,00 m lang und 1,50 breit. Je Wiederholung wurden zwei Trennparzellen mit Triticale (TIW 1/1 bis TIW 2/4) gelegt. Zwischen den Wiederholungen 1 und 2 bzw. 3 und 4 war der Trennstreifen 0,70 m breit und zwischen den einzelnen Sorten 0,30 m breit. Als Füllparzelle am Anfang und Ende sowie als Umrandung von Wiederholung 1 und 2 bzw. 3 und 4 wurde Winterweizen gedrillt.

Die Sortencharakteristika sind in Tab. 1 dargestellt.

Anbaunummer	Sorte	Reifegruppe	Anfälligkeit
1	SW Topper		7
2	Cardos	1	5
3	Ludwig		4
4	Contra	II	7
5	Bussard	11	3
6	Batis	II	3
7	Dekan	11	4
8	Drifter	11	5
9	Winnetou	11	5
10	Türkis	11	4
11	Tommi	11	5
12	Ellvis	111	5
13	Ritmo	111	7
14	Opus	III	7
15	Solitär		2

Tab. 1: Reifegruppe und *Fusarium*-Anfälligkeit der 15 angebauten Winterweizensorten (Reifegruppe I: früh, II: mittel, III: spät, Anfälligkeitsgruppe 1: schwach, 7: stark)

Die 3. und 4. Wiederholung wurde mit einer Sporensuspension des Pilzes mehrmals künstlich infiziert. Das Infektionsmaterial wurde vom Julius-Kühn-Institut zur Verfügung gestellt. Die mit der Art *Fusarium culmorum* bewachsenen und getrockneten Getreidekörner wurden etwa 2 Stunden in Wasser eingeweicht und anschließend abgesiebt. Eine Bestimmung der Konidienkonzentration im Wasser erfolgte im Rahmen des Teilprojekts 1.2 "Indikatoren und Sensortechnik zur Erkennung von Mykotoxinbildnern in der Getreideaufbereitung". Die Konidiensuspension wurde mit einer Motorrückenspritze vorrangig in den späten Abendstunden ausgebracht. In Tabelle 2 sind alle Maßnahmen mit den Terminen aufgeführt. Tab. 2: Termine der Maßnahmen des Feldversuches

Maßnahme	Termine
Aussaat	16.10.2008
Herbizidapplikation 1,9 I ha ⁻¹ Herbaflex in 250 I ha ⁻¹ Wasser	12.11.2008
Düngung NPK jeweils 40 kg ha ⁻¹ N	04.03., 20.04., 03.06.2009
Fungizid- und Wachstumsreglerapplikation 1,5 I ha ⁻¹ Opus Top + 0,4 I ha ⁻¹ Moddus in 300 I ha ⁻¹ Wasser)	08.05.2009
Totalherbizidapplikation zwischen den Parzellen 0,5 I ha ⁻¹ Roundup in 300 I ha ⁻¹ Wasser	15.05.2009
Sporensuspensionsspritzung mit Rückenspritze	28.05.2009, 40 I Wasser, $5,6^{*}10^{5}$ Konidien ml ⁻¹ 30.05.2009, 40 I Wasser, $3,8^{*}10^{5}$ Konidien ml ⁻¹ 02.06.2009, 40 I Wasser, $1,3^{*}10^{6}$ Konidien ml ⁻¹ 05.06.2009, 40 I Wasser, $1,4^{*}10^{6}$ Konidien ml ⁻¹ 09.06.2009, 20 I Wasser, $5,6^{*}10^{5}$ Konidien ml ⁻¹
Fungizid- und Insektizidapplikation 1,5 I ha ⁻¹ OpusTop + 1 I ha ⁻¹ Danadim + 0,7 I ha ⁻¹ Nutrimix in 300 I ha ⁻¹ Wasser (beg. Blattlaus- /Getreidehähnchen-/Braunrostbefall)	18.06.2009

Folgende Pflanzen- und Krankheitsparameter wurden ab Wachstumsstadium 34 zweimal wöchentlich erfasst: Pflanzenhöhe und -dichte, Blattflächenindex, % mit *Fusarium* befallene Ährenfläche an 20 Ähren, andere auftretende Pilzkrankheiten und Schadinsekten. Nach Sichtbarwerden der Symptome (Chlorophylldefekt) erfolgten die Aufnahmen mit der entsprechenden Kameratechnik mit einem mobilen Messwerterfassungssystem.

I.3. Wissenschaftlicher und technischer Stand

In infektionsgefährdeten Jahren kann Ährenbefall mit dem *Fusarium*-Pilz zu Ertrags- und Qualitätseinbußen sowie erhöhter Mykotoxinbildung führen. Dies hat Erlöseinbußen für den Landwirt sowie Gefahren für den Verbraucher zur Folge.

Integrierte Maßnahmen des Pflanzenschutzes bereiten bei der Eindämmung von Ährenfusariosen im Vergleich zu anderen Pilzkrankheiten im Getreide Probleme:

- Eine Applikation von Fungiziden führt nicht zwangsläufig zu einer Reduktion des Mykotoxingehaltes (Pirgozliev *et al.*, 2001).
- Züchtungsbemühungen (Kostecki *et al.* 1997; Buerstmayr *et al.* 1999; Moldovan *et al.* 1999; Golinski *et al.* 2002; Miedaner *et al.* 2003) erbrachten bis jetzt keine resistenten Sorten. Die Sorten unterscheiden sich nur hinsichtlich ihrer Anfälligkeit.
- Auf Grund des hohen Getreide- und Maisanteils in der Fruchtfolge ist der Krankheitsdruck permanent hoch, so dass mit einem gleichmäßig hohen Infektionspotenzial für *Fusarium* im Getreidebau zu rechnen ist.
- Durch den zunehmenden Anteil der nichtwendenden Bodenbearbeitung (günstige Energiebilanz) verbleiben die Ernterückstände auf dem Boden und erhöhen das Infektionspotenzial (Champeil *et al.* 2004).

• Bei der Getreidereinigung können befallene Körner mit ähnlicher Größe wie gesunde nicht entfernt werden.

Daher kommt einer Kontrolle der Getreidebestände vor der Ernte eine besondere Bedeutung zu, um eventuell befallene Erntepartien separat der Lagerung zuzuführen.

In der Literatur gibt es umfangreiche Untersuchungen zur Detektion von Pflanzenstress unter anderem auch verursacht durch pilzliche Krankheitserreger vor allem unter kontrollierten indoor-Bedingungen mittels Thermografie (Nilsson 1995; Chaerle *et al.* 2001; Oerke *et al.* 2006), Chlorophyllfluoreszenz (Esfeld *et al.* 1995; Moll *et al.* 1995; Lüdeker *et al.* 1996; Scholes und Rolfe 1996; Balachandran *et al.* 1997; Santos *et al.* 1998; Meyer *et al.* 2001; Bazzanezi *et al.* 2002; Herppich *et al.* 2005) und Farbbilder (Beplate-Haarstrich *et al.* 2004; Ridgeway *et al.* 2002). Aufgrund der komplexen Störeinflüsse unter Feldbedingungen sind diese Ergebnisse nicht direkt auf das Freiland übertragbar.

I.4. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Die Entwicklung des Messsystems erforderte die Bearbeitung einer Reihe interdisziplinärer Fragestellungen durch ein Unternehmen der industriellen Bildverarbeitung und durch eine Forschungseinrichtung des Bundes:

- SYMACON Bildverarbeitung GmbH, Barleben
- Julius-Kühn-Institut, Institut Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Braunschweig.

Die problemorientierte Zusammenarbeit spezialisierter Partner sollte zur höheren Effektivität bei der Entwicklung einer industriellen praxisnahen Lösung des Messsystems beitragen.

Für die Sensortests war es nötig, mit dem Erreger befallene Weizenähren zur Verfügung zu haben. Künstliche Infektionen mit dem *Fusarium*-Pathogen an Weizen waren daher notwendig. Dr. Rodemann vom Julius-Kühn-Institut, Institut Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Braunschweig war für die Bereitstellung befallener Weizenpflanzen sowie für das *Fusarium*-Infektionsmaterial für die Freilandversuche verantwortlich. Eine künstliche Infektion war notwendig, da aufgrund unterschiedlicher Wetterbedingungen nicht in jedem Jahr mit natürlichem Befall im Freiland zu rechnen ist.

Die Firma SYMACON erarbeitete ein Konzept zur Aufzeichnung der einlaufenden Bildinformationen und realisierte die softwaretechnische Umsetzung. Dies war nötig, um die anschließende Bildverarbeitung so effektiv und schnell wie möglich zu realisieren sowie um eine Angabe des ortspezifischen Anteils mit *Fusarium*-infizierten Winterweizenähren zu erhalten. Da sich im Freiland durch den Wechsel von Licht und Schatten (Wolken) die Beleuchtungsverhältnisse schnell ändern können, hat SYMACON für die Multispektralkamera eine automatische Beleuchtungsnachsteuerung programmiert.

Von der Firma SYMACON wurde für die Multispektralkamera und die RGB-Industriekamera, entsprechend dem im Ergebnis der Freilandversuche aufgestellten Bildverarbeitungsalgorithmus, ein Prototyp eines computergestützten Auswerteprogramms erstellt.

Teil II Eingehende Darstellung

II.1. Erzielte Ergebnisse

Laborversuche

Während der Projektlaufzeit wurden zwei hyperspektrale Bildscanner (Abb. 2) aufgebaut. Als erstes erfolgte der Aufbau eines Scanners im visuellen (400-1000 nm) Bereich, der im 1. Quartal 2008 abgeschlossen war. Die Einzelkomponenten wurden von der Firma "ZEUTEC" geliefert. Die Inbetriebnahme des zweiten Scanners von der Firma "LOT ORIEL" (Komplettsystem) im Nahen Infrarotbereich (900-1700 nm) wurde im 1. Quartal 2009 abgeschlossen. Der Aufbau beider Scanner ist weitgehend identisch. Beide bestehen aus einer Schwarz-Weiß-Kamera, einem Spektrographen und einem Drehspiegelvorsatz mit Mikroschritt-Motor.



Abb. 2: Labormessplatz hyperspektraler Bildscanner oben: Sichtbarer Bereich, unten: Naher Infrarotbereich, mittig: Drehspiegel

In beiden Fällen wurden die Proben mit einer stabilisierten 150 W Halogenlichtquelle beleuchtet. Die Ansteuerung und Datenvorverarbeitung erfolgte unter Einbeziehung der mitgelieferten Treiber über ein im ATB entwickeltes LabView-Programmpaket (LabView 8.2, National Instruments, Austin, Texas, USA).

Mit dem Scanner im visuellen Bereich sowie einem Chlorophyllfluoreszenzmesssystem (FluorCAM 700MF, PSI, Brno, Tschechische Republik) wurden die ersten Messungen im Jahr
2008 vorrangig an im Gewächshaus künstlich infizierten Weizenähren durchgeführt. Ziel der Untersuchungen war es zu klären, ab welchem Zeitpunkt und wie lange Symptome eines *Fusarium*-Befalls erkannt werden können und wie genau bei verschiedenen Befallsstärken mit beiden Methoden die Erkrankung erkannt wird.

Die Messungen an den Ähren des Freilandversuchs 2009 erfolgten parallel mit beiden hyperspektralen Scannern.

Laborversuche 2008 mit dem hyperspektralen Bildscanner (400-1000 nm)

In der Zeit von März 2008 bis November 2008 wurden zwei Zeitreihenversuche (vom Entwicklungsstadium BBCH 65 bis BBCH 89) und eine zusätzliche Messreihe an Weizenpflanzen (Entwicklungsstadium BBCH 75/77) mit ausgeprägten *Fusarium*-Symptomen durchgeführt. Die Pflanzen wurden in Töpfen im JKI Braunschweig angezogen und mit *Fusarium culmorum*-Sporen inokuliert.

Die Bonitur der Laborpflanzen erfolgte dreimal wöchentlich. Der Entwicklungsstand der Ähren wurde nach der BBCH-Skala [Skala von 00 (Keimung, trockener Samen) bis 99 (Erntegut)] aufgenommen und der prozentuale Befall der Ähren entsprechend einer Boniturhilfe nach Walther *et al.* (2000) geschätzt. Zusätzlich wurden unter Freilandbedingungen gewachsene Weizenpflanzen in die spektralen Untersuchungen einbezogen. Die Pflanzen stammten aus einem Feldversuch zur Sortenprüfung des Julius-Kühn-Institutes Braunschweig, Versuchsfeld Sikte (20 Ähren einer resistenten und einer anfälligen Sorte).

Die Reflexionsspektren für den Zeitreihenversuch wurden an jeweils 6 ausgewählten Ähren pro Variante, die auch mittels Chlorophyllfluoreszenz untersucht wurden, im zeitlichen Abstand von 2-3 Tagen ca. 3 Wochen lang erfasst.

Zunächst erfolgte unter Nutzung des gesamten Spektrums von 400-1000 nm (512 Bänder) mit der Bildanalysesoftware ENVI (ENVI 4.3, ITT Visual Information Solutions, Boulder, USA) eine Klassifizierung in kranke und gesunde Ährenbereiche.

Es wurden zunächst Regions of Interest (ROIs) von jeweils gesunden und kranken Ähren gekennzeichnet. Als Klassifizierungsalgorithmus kam der Spectral Angle Mapper (SAM) zur Anwendung, der als unempfindlich gegenüber Beleuchtungsunterschieden gilt (ENVI User`s Guide). Es konnte als optimaler Zeitpunkt für eine effektive Differenzierung durch die hyper-spektrale Bildanalyse 14±2 Tage nach Inokulation in den Zeitreihenexperimenten (Abb. 3) ermittelt werden. Weniger zuverlässig waren die Klassifizierungen sowohl zu einem frühen (erste Woche nach Infektion) als auch zu einem späten Zeitpunkt nach Beginn der Reife (ca. 4 Wochen nach der Infektion). Einzelheiten sind dem Beitrag Bauriegel *et al.* (2009) zu ent-nehmen.



Abb. 3: SAM-Klassifizierung (grün: gesund klassifiziertes Gewebe, rot: krank klassifiziertes Gewebe). Obere Reihe: infizierte Ähren, untere Reihe: Kontrolle (dai: days after inoculation)

Die als krank klassifizierten Anteile stimmen sehr gut mit den bonitierten Befallsstärken überein (R² der linearen Regression = 0,96) (Abb. 4). Dazu wurden die Anteile der krank klassifizierten Pixel zu den insgesamt klassifizierten Pixeln (gesund + krank, vgl. Abb. 3) errechnet. Die Klassifizierungsergebnisse der ersten 14 Tage nach Inokulation stimmen mit der visuellen Bonitur gut überein. Allerdings wurde der in der Anfangsphase auftretende, bis zu 3%ige Chlorophylldefekt an den Spitzen der Ährchen, verursacht durch Entwicklungsstörungen, als krank klassifiziert. Hingegen wurde mit beginnender Reife 16 Tage nach Inokulation weniger Ährenfläche als krank klassifiziert als durch die Bonitur geschätzt wurde.

Kranke Ähren konnten bei beginnender Reife (ab BBCH 81) noch teilweise von gesunden Ähren unterschieden werden. Dabei blieben die Pixel unklassifiziert, die Reifesymptome zeigten und vorher als gesund klassifiziert wurden.



Abb. 4: Bonitierter Befall (blaue Linie) und mittels ENVI klassifizierter Befall (rote Balken: krank klassifizierte Pixelanteile, gelbe Balken: unklassifizierte Pixelanteile, Mittelwert aus 6 Ähren)

Die Kontrollpflanzen (nicht dargestellt) wurden zu 98% (9 Tage nach Inokulation) bzw. 94% (14 Tage nach Inokulation) als gesund klassifiziert. Fälschlicherweise als krank werden die aus den Ährchen geschobenen, noch anhaftenden Antheren und die entwicklungsbedingten Chlorophylldefekte (vgl. infizierte Ähren) eingestuft. Dies bildet die "Grundbelastung" an Schädigung/Chlorophylldefekten, die unter indoor-Bedingungen unabhängig von der Partiellen Taubährigkeit bei den Pflanzen auftrat. Mit zunehmender Reife traten vermehrt gesunde Bereiche in der Ähre auf, die unklassifiziert blieben (4% 14 Tage nach Inokulation).

Mit Hilfe des SAM-Klassifizierungsalgorithmus konnte ab BBCH-Stadium 75 (7 Tage nach Inokulation) die Partielle Taubährigkeit unter Laborbedingungen zuverlässig identifiziert werden. Nur im BBCH-Stadium 75 bis 77 war es möglich, mit *Fusarium* befallene Ähren korrekt zu klassifizieren. Dagegen war es aufgrund der oben genannten Entwicklungsschäden nicht möglich, einen Befall unter 5% richtig zu klassifizieren. Mit fortschreitender Reife erhöht sich die Zahl der nicht korrekt klassifizierten Pixel. Dies betrifft sowohl die Kontrollen als auch die künstlich infizierten Pflanzen.

Nach der Klassifizierung mit den Reflexionswerten des gesamten Spektrums erfolgte die Ermittlung definierter Wellenlängenbereiche mit denen wiederum eine Klassifizierung durchgeführt wurde. Dazu wurden Spektren gesunder und kranker Gewebebereiche mit der Software ENVI ermittelt und in einer spektralen Bibliothek abgelegt (Abb. 5). Es gingen sowohl Spektren der Labor- als auch der Feldpflanzen ein, um die Variabilität in der Symptomausprägung an den Ähren zu berücksichtigen.



Abb. 5: Spektren gesunder (oben) und kranker (unten) Gewebebereiche

Aus den 104 Einzelspektren gesunder und kranker Gewebebereiche lassen sich typische mittlere Spektren darstellen (Abb. 6). Das flächenanteilig gering auftretende rote Pilzmyzel an der Oberfläche der kranken Ährchen ist als separates Spektrum dargestellt (dünne graue Linie).



Abb. 6: Mittlere Spektren gesunder (grüne Linie) und kranker Gewebereiche (rote Linie) sowie des roten Myzelbelages an der Ährchenoberfläche (graue Linie)

Um die Frage zu klären, welche Wellenlängen für die Unterscheidung kranker und gesunder Gewebebereiche am meisten beitragen, wurden alle 104 Einzelspektren nach Vorverarbeitung einer Hauptkomponentenanalyse (PCA) unterzogen. Im Ergebnis wurden bei einem angenommenen Faktorladungswert von >0,8 vier Wellenlängenbereiche ermittelt: 500-533 nm, 560-675 nm und 682-733 nm. Für den Bereich 927-931 nm ist die Aussage mit Unsicherheiten behaftet, da der Kamerasensor des hyperspektralen Bildscanners in diesem Wellenlängenbereich nicht mehr sensitiv genug ist.

Die Unterscheidung kranker und gesunder Gewebebereiche ist möglich, da die gesunden, chlorophyllhaltigen Gewebeteile, im Gegensatz zu den befallenen, eine deutlich ausgeprägte spektrale Signatur besitzen (Abb. 7).



Abb. 7: Mittels PCA ermittelte Wellenlängenbereiche zur Unterscheidung kranker und gesunder Ährenbereiche und mittlere Spektren aus Abb. 6

Die in der PCA gefundenen Wellenlängenbereiche wurden in einer Diskriminanzanalyse benutzt, um die Güte der Trennung zwischen gesunden und kranken Ährenbereichen einzuschätzen. Die gesunden Ährenbereiche wurden zu 100%, die kranken Ährenbereiche zu 94% richtig klassifiziert. Hervorzuheben ist dabei, dass der Bereich des roten Sporenbelages auf den abgestorbenen Ährchen den kranken Gewebebereichen zugeordnet wurde. Falsch klassifiziert wurden verkrüppelte Ähren oder andere Wachstums- und Entwicklungsstörungen der Ähren, die unter Laborbedingungen häufiger auftraten.

Das Klassifizierungsergebnis ist abhängig vom Entwicklungsstadium der Pflanzen, was in Abb. 8 deutlich wird.



Abb. 8: Ergebnisse der PCA (PC1 und PC2) (Datengrundlage waren 292 Spektren kranker Gewebebereiche, 80 Spektren gesunder Gewebebereiche)

Krankes und gesundes Gewebe waren im Entwicklungsstadium BBCH 71-85 gut trennbar. Im BBCH 65, kurz nach Infektion war keine Trennung zwischen gesundem (grüne Punkte) und krankem Gewebe (rote Punkte) möglich (Symptome noch nicht sichtbar).

Auch im BBCH-Stadium 89 (Reife) kommt es zur Überlagerung der grün-gelben (gesund) und der rot-gelben Punkte (krank). Gesunde Bereiche wurden aufgrund der Reifesymptome als krank eingestuft. Eine Unterscheidung zwischen krank und gesund war nicht mehr möglich.

Laborversuche 2008 mit der Chlorophyllfluoreszenz

Die potentielle maximale photochemische Effizienz (F_v/F_m) gesunder intakter Pflanzenteile kann unter optimalen Bedingungen einen maximalen Wert von 0,84 erreichen (von Willert *et al.* 1995). Bei stark befallenen Ähren war F_v/F_m durch den damit verbundenen Chlorophyllabbau nahezu Null. In den infizierten Ähren war eine schnelle Abnahme der photochemischen Effizienz vor Sichtbarwerden eines Chlorophylldefektes feststellbar. Details können der Veröffentlichung Bauriegel *et al.* (2009) entnommen werden.

Die räumliche Verteilung der photochemischen Effizienz kranker und gesunder Gewebebereiche innerhalb der Ähre (Milchreifestadium) wurde in einem Falschfarbenbild dargestellt (Abb. 9). Wie in der F_v/F_m -Skala ersichtlich, zeigen rot-orange Farbtöne eine hohe photochemische Effizienz, blaue Farbtöne eine stark reduzierte photochemische Effizienz. D.h. gesunde Ähren erscheinen in einem rötlichen Farbton, infizierte Ähren besitzen blaue Bereiche.

Zu diesem Zeitpunkt differierte der visuelle Befall zwischen 2 und 100%.



Abb. 9: Chlorophyllfluoreszenz einer schwach (links) und stark (rechts) infizierten Ähre

Die schwach befallenen Ähren (2% Befall) waren noch photosynthetisch aktiv (hoher F_v/F_m -Wert) und unterscheiden sich kaum von den Kontrollen. Die Werte der Photosyntheseeffizienz konzentrieren sich zu einem sehr großen Anteil in hohen Effizienzklassen. Stärker befallene Ähren (50% Befall) belegten sowohl hohe Effizienzklassen durch die noch intakte Gewebestruktur als auch niedrige Effizienzklassen, hervorgerufen durch das geschädigte Gewebe (vgl. Abb. 10a und 10b).



Abb. 10: a: Pixelverteilung der photochemischen Effizienz (F_v/F_m) schwach befallener (2%) Weizenähren. b: Pixelverteilung der photochemischen Effizienz (F_v/F_m) stark befallener (50%) Weizenähren

Zur Auswertung und Ableitung des Krankheitsgrades erfolgte eine Gruppierung aller F_v/F_m -Werte in Klassen (Schrittweite 0,05). Ein optimaler Wert zur Unterscheidung von gesunden

und befallenen Ähren wurde beim kumulativen F_v/F_m -Wert von 0,3 gefunden (Abb. 11). Bei kranken Ähren überwiegen die Pixel in den Klassen bis 0,3. Daher wurde dieser Anteil zur Unterscheidung kranker Ähren herangezogen.



Abb. 11: Kumulativer Anteil von F_v/F_m -Werten (%) kranker Ähren zur Differenzierung unterschiedlicher Befallsstärken

Wie in Abb. 11 deutlich erkennbar ist, konzentrieren sich die F_v/F_m -Werte sehr schwach befallener Ähren (2-3% Befall) in den hohen Photosynthese-Effizienzklassen >0,6. Nur ein sehr geringer Anteil ist in den niedrigen Effizienzklassen zu finden. Dies ist bei den sehr stark befallenen Ähren genau umgekehrt. Ähren mit 40-60% Befallsstärke besaßen photosynthetisch aktive und inaktive Gewebebereiche (vgl. Abb. 9). Hier erhöht sich der Anteil der Ährenfläche mit verminderter Chlorophyllfluoreszenz. Der Anteil (25 bis >40%) mit niedrigen F_v/F_m -Werten bis 0,3 nimmt deutlich zu (Abb. 11).

Es wurde eine lineare Abhängigkeit (y = 4,003+1,073x, R²=0,978) zwischen der mittleren Befallsstärke (x-Werte) und dem mittleren kumulativen Anteil der F_v/F_m-Werte bei 0,3 (y-Werte) gefunden (Abb. 12). Mit einem RMSE (root mean squared error) von 5,78% wurden die Befallsstärken ca. 6% unter- bzw. überschätzt. Eine exakte Zuordnung war bei geringem Befall nicht möglich. Erst ab einem Befall von >5% war ein Zusammenhang zwischen bonitierter Befallsstärke und entsprechenden F_v/F_m-Werten nachweisbar.



Abb. 12: Beziehung zwischen mittlerem kumulativem Anteil der F_v/F_m -Werte bei 0,3 und mittlerer Befallsstärke (15 Ähren, 3 Messtermine, Messwerte gewichtet nach Walther *et al.* 2000)

Bei dem Zeitreihenversuch begannen die Messungen einen Tag nach abgeschlossener Inokulation. Der Photosyntheseeffizienz (kumulativer F_v/F_m -Wert bis Effizienzklasse 0,3) kranker (grüne Linie) und gesunder Pflanzen (Kontrollen, schwarze Linie) wurde die geschätzte Befallsstärke (visuelle Bonitur, rote Linie) gegenübergestellt (Abb. 13). Je höher dieser Wert ist, desto höher ist der bonitierte Krankheitsgrad bei der jeweils gemessenen Ähre.



Abb. 13: Kumulativer Anteil von F_v/F_m bis Effizienzklasse 0,3 bei gesunden (schwarze Linie) und kranken Ährenbereichen (grüne Linie) und geschätzter Befallsstärke (in %, rote Linie) bei schwach (A) und stark befallenen Ähren (B)

Im vorliegenden Versuch konnten mit Hilfe der Chlorophyllfluoreszenzbildanalyse kranke Ähren ab einer Befallsstärke von 5% sicher detektiert werden (Abb. 13B). Bei den stark befallenen Ähren (≤5% Befall am 6. Tag nach Inokulation) lag der Anteil niedriger Effizienzklassen schon am ersten Messtag 3% über dem Wert der Kontrolle und hatte sich nach einer Woche auf 10% erhöht (Abb. 13B). Bis zu einer Befallsstärke von 4% konnten keine Unter-

schiede in der Photosyntheseeffizienz von gesunden und befallenen Ähren festgestellt werden (Abb. 13A).

Am Ende der Versuchsreihe wurden Kornparameter und Mykotoxingehalte bestimmt (Methodik der Mykotoxinbestimmungen vgl. 2. Zwischenbericht, Teilprojekt 1.2 "Indikatoren und Sensortechnik zur Erkennung von Mykotoxinbildnern in der Getreideaufbereitung"). Ziel war es nachzuprüfen, ob die Symptome an den Ähren eindeutig einer *Fusarium*-Infektion zuzuordnen sind. Erwartungsgemäß sank mit Zunahme des Befalls die Kornmasse je Ähre (Abb. 14).



Abb. 14: Kornmassen mit Konfidenzintervall in drei Befallsklassen (0-5%, 5-10%, 20-30%) und der Kontrolle (8,25-9,25% Kornfeuchte)

Zwischen der Klasse des schwächsten (0-5%) und des stärksten Befalls (20-30%) reduzierte sich die Masse um ca. ein Drittel (0,45 g auf 0,3 g). Aufgrund der sehr hohen Standardabweichungen können jedoch die Unterschiede nicht gesichert werden.

Durch die *Fusarium*-Infektion wurden einige Blütenanlagen so stark geschädigt, dass taube Ährchen auftraten bzw. zusätzlich mit einem rötlichen Myzel belegt waren. Der Anteil von Schmachtkörnern, tauben bzw. mit rötlichem Myzel belegten Ährchen war in den Befallsklassen unterschiedlich (Abb. 15). In der schwachen Befallsklasse betrug der Anteil etwa 10%, in der hohen Befallsklasse (20-30%) doppelt so viel. Die Kontrollpflanzen waren erwartungsgemäß symptomfrei und besaßen keine tauben Ährchen.



Abb. 15: Anteil tauber Ährchen in drei Befallsklassen (0-5%, 5-10%, 20-30%) und der Kontrolle

Bei der Anzahl der Ährchen pro Ähre und der Ährenlänge zeigten sich keine Unterschiede zwischen gesunden und infizierten Pflanzen.

Die infizierten Pflanzen wiesen nicht nur äußerliche Symptome eines *Fusarium*-Befalls auf, sondern waren auch massiv mit dem Mykotoxin DON belastet (Tab. 3).

Probe	Mittelwert von DON in µg kg ⁻¹
krank, 0-5%	3583
krank, 5-30%	> 6300
Kontrolle 1	107
Kontrolle 3	48
Kontrolle 4	0

Tab. 3: DON-Gehalte der infizierten und Kontrollpflanzen (Kontrolle 2 Ausfall wegen Mehltau)

Der EU-Höchstgehalt für DON bei unverarbeitetem Getreide liegt bei 1250 µg kg⁻¹. Die unbehandelten Kontrollproben weisen keinen bzw. einen nur minimalen DON-Gehalt auf, der vernachlässigt werden kann.

Die künstlich infizierten Proben hingegen sind stark DON-belastet und überschritten den Grenzwert für Getreide erheblich.

Laborversuche 2009 mit den hyperspektralen Bildscannern (400-1000 und 900-1700 nm)

Für die hyperspektralen Bildaufnahmen wurden in einem Rahmen infizierte und nichtinfizierte Kontrollähren angeordnet, wie Abb. 16 zeigt.



Abb. 16: Anordnung von infizierten und nicht infizierten Ähren für die hyperspektralen Bildaufnahmen (Sorte 13 und 14, Wiederholung 1 bis 4)

Im Ährenbereich der infizierten Ähren und dem der Kontrollähren wurden visuell als krank bzw. gesund erkannte Regionen ausgewählt und das mittlere Spektralprofil dieser Regionen dargestellt (Abb. 17 und 18).



Abb. 17: Spektren kranker (infizierte Ähren) und gesunder (Kontrollähren) Regionen im Wellenlängenbereich zwischen 400 und 1000 nm



Abb. 18: Spektren kranker (infizierte Ähren) und gesunder (Kontrollähren) Regionen im Wellenlängenbereich zwischen 950 und 1650 nm

In beiden Wellenlängenbereichen sind deutliche Unterschiede zwischen kranken und gesunden Ähren zu erkennen. Die Unterschiede zwischen den Sorten sind zwar klar erkennbar, sind aber nicht so ausgeprägt wie zwischen den infizierten Pflanzen der Parzellen 3 und 4 sowie denen der Kontrollparzellen 1 und 2.

Auf Basis der ermittelten Spektren wurden die Aufnahmen mit dem Spectral Angle Mapper (SAM) aus ENVI klassifiziert. Das Ergebnis der Klassifizierung im visuellen Bereich ist in Abb. 19, das der Klassifizierung im NIR-Bereich in Abb. 20 dargestellt. Die NIR-Aufnahmen sind seitenverkehrt.



a) Referenzspektrum: Sorte 13

b) Referenzspektrum: Sorte 14

Abb. 19: Klassifizierung in krank (rot), gesund (grün) und unklassifiziert (schwarz) anhand der Spektren im sichtbaren Bereich Die vom *Fusarium*-Pilz verursachten Chlorophylldefekte der infizierten Ähren werden erkannt. In den gesunden Ähren sind nur in der Sorte 14 anhand der Referenzspektren der Sorte 13 einige kleinere Regionen als krank klassifiziert worden.

Ähnlich zeigt es sich nach Klassifizierung anhand der Referenzspektren im Nahen Infrarotbereich. Man muss beachten, dass die Aufnahme seitenverkehrt ist, d.h. die zwei gesunden Ähren in Abb. 16 bzw. 19 befinden sich auf der linken Seite.



e) Klassifizierung nach Sorte 13

f) Klassifizierung nach Sorte 14

Abb. 20: Klassifizierung in krank (rot), gesund (grün) und unklassifiziert (schwarz) anhand der Spektren im Nahen Infrarot Bereich

Für die anderen Sorten wurden ähnliche Ergebnisse erreicht.

Freilandversuche

Freilandversuche 2007 mit der Multispektralkamera

Fusarium-Befall geht mit einem Chlorophyllabbau einher, so dass im sonst gesunden grünen Bestand die befallenen Ähren mehr oder weniger deutlich zu erkennen sind. Es war daher anzunehmen, dass intakte grüne Ähren Licht im Rotbereich absorbieren und im Infrarotbereich reflektieren. Gewebe mit Chlorophylldefekten sollte sich anders verhalten. Der Unterschied zwischen der Reflexion im Rot- und Infrarotbereich ist viel geringer. Da unterschiedliche Beleuchtungsverhältnisse (Licht, Schatten) einen bedeutenden Einfluss auf Lage und Verteilung der Grauwerte der jeweiligen Spektralkanäle haben, wurde in Freilandversuchen getestet, inwieweit die Nutzung des R- und IR-Wellenlängenbereiches zur Erkennung von mit *Fusarium* infizierten Ähren im Stadium des Chlorophylldefektes nutzbar sind. Es wurde die in ProSensonet1 entwickelte Dreikanal-Kamera (R, IR, G) vom Typ: DuncanTech MS 2000 (659 x 494 Pixel) genutzt (Böttger *et al.* 2004). In den Pflanzenwissenschaften hat sich der bekannte Normalised Differential Vegetation Index NDVI (IR-R/IR+R) zur Unterscheidung von grünem von nichtgrünem Gewebe bewährt. Der NDVI wurde genutzt, um die Symptome eines *Fusarium*-Befalls (Chlorophylldefekt) im Binärbild zu erkennen.

Erste Vortests mit dieser Kamera an im Labor künstlich infizierten Ähren ließen positive Ergebnisse unter Feldbedingungen vermuten. Da sich im Freiland Beleuchtungsverhältnisse ändern, wurden vom Projektpartner SYMACON eine automatische Nachregulierung der Belichtungszeit dieser Kamera sowie die zeitgleiche Speicherung folgender Bilder programmiert:

- Falschfarbenbild
- Graustufenbild Infrarot
- Graustufenbild Rot
- Graustufenbild Grün
- Graustufenbild NDVI
- Binärbild nach Auswahl der Binarisierungsschwelle.

Eine Maske erlaubt außerdem eine benutzerdefinierte Auswahl der verschiedenen Bilder in den jeweiligen Kanälen.

Die Kamera wurde an ein Trägerfahrzeug montiert. Dazu wurde ein flexibel verstellbarer Kameraträger konstruiert. Dieser erlaubt es, den Anstellwinkel und die Höhe der Kamera zu verändern (Abb. 21).



Abb. 21: Multispektralkamera im Schutzgehäuse an einem flexibel verstellbaren Kameraträger für Versuche in Praxisflächen

Die ersten Freilandversuche mit dieser Kamera dienten dem Definieren des Bildanalysealgorithmus und der Wahl des optimalen Anstellwinkels und des Abstands der Kamera zur Ährenoberfläche. Dazu wurden in einem Winterweizenbestand bereits abgestorbene Ähren, die im Julius-Kühn-Institut für die Laborversuche künstlich mit *Fusarium* infiziert wurden, platziert (Abb. 22) und die Szene mit der Multispektralkamera aufgenommen. Zu Testzwecken erfolgten entsprechend der Bildauflösung der Kamera Aufnahmen unter Veränderung des Anstellwinkels und der Höhe des Kameraobjektives zur Bodenoberfläche zu 4 Aufnahmeterminen: 01.06., 04.06., 05.06., 12.06.2007.



Abb. 22: Drei abgestorbene Ähren (Fusarium-infizierte Laborpflanzen) im Winterweizenfeld (RGB-Bild)

Um fehlklassifizierte Pixel zu eliminieren, erfolgte die Anwendung geeigneter morphologischer Filteroperationen mit der Bildverarbeitungssoftware "Optimas". Mit Hilfe der beiden Operationen "Open" und "Close" (Haberaecker 1989) konnten die hellen Ähren eindeutig erkannt werden. Nach Anwendung der Methode auf Abb. 23 links ergab sich ein "bereinigtes" Bild (rechtes Bild Abb. 23).



Abb. 23: Binärbild des NDVI von Abb. 22 (links) und nach Anwendung der Operation Close und Open (rechts)

Detaillierte Ergebnisse sind dem Zwischenbericht 2008 zu entnehmen. Diese können wie folgt kurz zusammengefasst werden:

- Aufnahmewinkel von 45° mit einem Abstand der Kamera von etwa 0,40 m bis zu den Ähren
- Beleuchtungsabhängigkeit der getesteten Methode
- Verringerung dieser Beleuchtungsabhängigkeit durch eine "mittlere" Binarisierungsschwelle.

Am 22.06.2007 wurden Bilder mit der Multispektralkamera in einem natürlich mit *Fusarium* befallenen Winterweizenfeld der "Landwirtschaftlichen Produktivgenossenschaft Dabrun e.G" aufgenommen (Abb. 24).



Abb. 24: Winterweizenbestand am 22.6.2007 mit natürlichem Fusarium-Befall (RGB-Bild)

Das Falschfarbenbild (links) aus Infrarot, Rot und Grün sowie das dazugehörige Ergebnisbild (Binärbild des NDVI) nach Bearbeitung mit der Software OPTIMAS (rechts) sind in Abb. 25 dargestellt.



Abb. 25: Falschfarbenbild aus Infrarot, Rot und Grün nach Farbanpassung mit Photo Paint (links), Binärbild des NDVI und nach Anwendung des bimorphologischen Filters (rechts)

In dem Binärbild wurden die Objekte automatisch gezählt und ergaben die in Tab 4 dargestellte Anzahl befallener Ähren auf einer Fläche von 0,80 m² an den 17 Messpunkten.

Bildszene	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Anz. bef. Ähren	4	1	2	2	1	2	2	6	1	4	5	3	5	1	2	4	1

Tab. 4: Detektierte Anzahl mit Fusarium spp. befallener Ähren in einem Bildausschnitt von 0,80 m²

Zur Kontrolle, ob sich die Symptome der Pilzgattung *Fusarium* zuordnen ließen, wurden im Teilprojekt 1.2 jeweils 10 Weizenkörner am 20.07.2007 mit NaOCI-Lösung oberflächensterilisiert und auf POC-Agar ausgelegt. Abbildung 26 zeigt beispielhaft von 6 Stichprobenpunkten das Auswachsen des Pilzmyzels nach 5 Tagen unter UV-Wechsellicht.



Abb. 26: Agarplattentest mit Körnern der Stichprobenpunkte 1 bis 6 (natürlicher *Fusarium*-Befall, Winterweizenfeld der Agrargenossenschaft Dabrun e.G.)

Die rötlichen und weißen Kolonien gehörten der Gattung *Fusarium* an. Aber auch Schwärzepilze der Gattung *Alternaria* (dunkle Kolonien) waren bei einigen Körnern vertreten. Schwärzepilze sind Sekundärparasiten, die abgestorbenes Gewebe vor der Ernte besiedeln.

Freilandversuche 2008 - Thermal-, Multispektral-, Farbbildindustriekamera

Für Testversuche im Freiland mit 3 Kamerasystemen (Thermal-, Multispektral-, Farbbildindustriekamera) wurde ein Messwerterfassungssystem mit einer variabel einstellbaren Kamerahalterung konstruiert, das an einen Hege-Geräteträger angepasst wurde. An diesem waren die drei verschiedenen Kameras angebracht (Abb. 27). Mit der Anordnung war es möglich, digitale Bilder in den entsprechenden Wellenlängenbereichen zu generieren.



Abb. 27: Mobiles Messwerterfassungssystem; Thermal-, Multispektral-, und Farbbildindustriekameras (von links) an einer höhen- und winkelverstellbaren Halterung auf einem Hege-Geräteträger

Sorten- und wachstumsbedingt variiert die Wachstumshöhe des Weizens. Dies war auch in den anstehenden Sortenversuchen auf dem Versuchsfeld Sikte des Julius-Kühn-Institutes Braunschweig sowie des ATB zu erwarten. Daraus ergaben sich variierende Entfernungen und Aufnahmewinkel zur Kamera. Folglich änderte sich auch die aufgenommene Fläche. Zur Quantifizierung dieser Bildfläche wurde ein Messgestell konstruiert, das stufenlos verstellbar ist (Abb. 28).



Abb. 28: Einsatz des Flächenmessgestells in den Freilandversuchen

In ersten Testversuchen am 02.07.2008 auf einem Winterweizenfeld in der Nähe des ATB ergab sich, dass Thermalbilder mit der am ATB vorhandenen Therma CAM SC500 (320 x 240 Pixel) von FLIR Systems für eine Diskriminierung der Partiellen Taubährigkeit nicht nutzbar sind. Temperaturunterschiede waren schon innerhalb der gesamten Aufnahmefläche, also nicht nur zwischen Ähren mit und ohne Chlorophylldefekt, vorhanden.

Im Sortenversuch mit verschieden anfälligen Winterweizensorten des Julius-Kühn-Institutes in Sikte wurden Aufnahmen am 14.07.2008 zum Wachstumsstadium BBCH 85/87 mit der Multispektralkamera durchgeführt. Durch die anschließende Binarisierung mit Hilfe des NDVI (IR-R/IR+R) konnten befallene Ähren kenntlich gemacht werden (Abb. 29 c, d).



Abb. 29: RGB-Bild mit Partieller Taubährigkeit einer schwach (links) und stark (rechts) anfälligen Winterweizensorte. Darunter Binärbilder derselben Sorte generiert aus dem NDVI

Im jeweiligen Binärbild wurde dann der prozentuale Anteil als Befall erkannter Pixel (schwarz) ermittelt. In Abb. 30 wurde dieser dem visuell eingeschätzten Befall gegenübergestellt.



Abb. 30: Scatterplot zwischen kameradetektiertem Krankheitsbefall (%) und visuell eingeschätzter Symptomstärke (Aufnahmen und Bonituren vom 14.07.2008)

Obwohl die Parameter der linearen Regression nicht befriedigen, deutet sich eine positive Korrelation zwischen den Kamerawerten und dem visuellen Befall an. Am 14.07, mit beginnender Gelbreife, gingen einige Sorten schon in die Reife über, so dass der Kontrast zwischen *Fusarium*-Symptomen und gesundem Ährengewebe deutlich abnahm.

Freilandversuche 2009 - Chlorophyllfluoreszenz

Chlorophyllfluoreszenz-Messungen im Freilandversuch erfolgten im Entwicklungsstadium BBCH 77 (Beispielaufnahmen in Abb. 31) am 23. und 24.06. an den Sorten 2, 8 und 9 mit der Resistenzklasse 5. Zur Vermeidung direkten Sonnenlichtes wurde der zu messende Bestand mit einem ca. 90 cm x 90 cm x 90 cm großen Karton beschattet. Insgesamt wurden 30 Ähren unterschiedlicher Befallsstärke gemessen. Die Messzeit für F_0 und F_m wurde von 4 s (Laborbedingungen) auf 2 s verkürzt. Nur optimal beleuchtete Bilder mit klar voneinander trennbaren Ähren wurden analysiert.



Abb. 31: Bildanalyse einer schwach infizierten (Befallsstärke 10%) und stark infizierten Ähre (Befallsstärke 60%) unter Freilandbedingungen im Feldbestand

Zur Unterscheidung wurden ebenfalls die kumulierten Photosyntheseeffizienzwerte (F_v/F_m) herangezogen. Gleiche Befallsstärken wurden als Mittelwert dargestellt (Abb. 32).



Abb. 32: Differenzierung der Befallsstärke durch den kumulativen Anteil von F_v/F_m (als Mittelwerte; n = 3-9)

In diesem Feldexperiment war die Differenzierung des Krankheitsbefalls weniger sicher als in den Labormessungen. Besonders die Verteilung der visuell mit 30% Befallsstärke bonitierten Ähren ist untypisch und lässt auf Ausreißer schließen. Die Ursache dafür lag möglicherweise in einem seitlichen Lichteinfall in die Messkabine. Dennoch können Ähren mit mittlerer (40-50%) und hoher (70-80% bzw. 90%) Befallsstärke von den Kontrollen und gering befallenen Pflanzen unterschieden werden. Eine Differenzierung war nur sinnvoll bei einer Befallsstärke von >40%. Da unter Feldbedingungen mehrere Einflussfaktoren (z.B. Wind, Clusterung der Ähren im Bestand, unterschiedliche Abstände zur Beleuchtung) wirken, war der lineare Zusammenhang zwischen dem kumulativen Anteil von F_v/F_m und der bonitierten Befallsstärke niedriger als im Laborversuch (Bestimmtheitsmaß R² = 0,694, Abb. 33).



Abb. 33: Scatterplot zwischen dem kumulativen Anteil von F_v/F_m und der bonitierten Befallsstärke (leere blaue Kreise: 23.06.09, rote Dreiecke: 24.06.09, gefüllte Symbole kennzeichnen die Ausreißer mit 30% Befallsstärke)

Die Anwendung der Chlorophyllfluoreszenztechnik zur Identifizierung von *Fusarium*-Symptomen unter Feldbedingungen ist noch mit Unsicherheiten behaftet. So sind F_0 , F_m und F_v direkt proportional zur einfallenden Bestrahlung. Außerdem muss eine direkte Sonnenbestrahlung während der Fluoreszenzmessung vermieden werden und die Pflanze mindestens 10 min vor der Messung des tatsächlichen F_0 und F_m dunkeladaptiert sein (von Willert *et al.* 1995; Bravo *et al.* 2004; Petkova *et al.* 2007). Der Einfluss des Windes konnte in den Versuchen durch eine Reduzierung der Aufnahmezeit von 4 s auf 2 s vermindert werden.

Freilandversuche 2009 - Multispektralkamera

Die Messungen mit der Multispektralkamera erfolgten zwischen Wachstumsstadium BBCH 75 und 85. Die Symptomausprägung bei den unterschiedlich anfälligen Sorten ist beispielhaft in Abb. 34 an Farbbildaufnahmen zu erkennen.



Abb. 34: Farbbildaufnahmen der *Fusarium*-Symptome an Weizenähren, links: gering anfällige Sorte (Parzelle 2.4), rechts hoch anfällige Sorte (Parzelle 1.4) am 18.06.2009

Zur Auswertung wurden die Aufnahmen vom 18.06.2009 zu BBCH 75 genutzt, da zu diesen Bildern der Kontrast zwischen den Krankheitssymptomen und den gesunden Ährenbereichen am deutlichsten war. Im Vergleich zur Bildauswertung im Vorjahr wurde nach der Binarisierung eine zusätzliche bildanalytische Methode angewendet (programmiert durch SYMACON), um die Anzahl befallener Ähren im Bildausschnitt zu ermitteln. Durch Grenzwertsetzung "minimale Fläche" wurden kleine Flächen zusammenhängender weißer Pixel, die meist durch Überbelichtungen verursacht wurden und eine ähnliche spektrale Signatur wie Befallssymptome aufweisen, aus dem Binärbild entfernt. Die unterschiedliche Befallsstärke wie in Abb. 34 wurde ebenfalls in diesen Binärbildern des NDVI erkennbar (Abb. 35)



Abb. 35: Binärbild des NDVI nach Grenzwertsetzung "minimale Fläche" der Sorten von Abb. 34, links: gering anfällige Sorte (Parzelle 2.4), rechts hoch anfällige Sorte (Parzelle 1.4)

Getrennt für Wiederholung 3 und 4 (Abb.1) zeigen die Scatterplots sowie die Bestimmtheitsmasse und Reststreuungen der linearen Regression in Abb. 36 den engen Zusammenhang zwischen dem durch die Kamera erfassten Krankheitsbefall und der visuell bonitierten Symptomstärke in den 15 Sorten.



Abb. 36: Scatterplot zwischen kameradetektiertem Krankheitsbefall (%) und visuell eingeschätzter Symptomstärke (%) an 15 Sorten am 18.06.2009 (oben: 3. Wiederholung, unten: 4. Wiederholung)

Entsprechend der Höhe des Regressionskoeffizienten wurde der visuelle Befall durch die Kamera um etwa 71% bzw. 88% unterschätzt.

In den Kontrollparzellen ohne künstliche Infektion der Wiederholung 1 und 2 wurde mit der Multispektralkamera vernachlässigbar geringer Befall festgestellt, was auch Ergebnis der visuellen Bonituren war (Tab. 4).

	Wiederh. 1		Wiederh. 2	
Sorte	visuell	Kamera	visuell	Kamera
1	0	0	0,25	0,2
2	0	0	0	0
3	0	0	0	0
4	0	0	0	0
5	0	0	0	0
6	0	0	0	0
7	0	0	0	0
8	0	0	0	0
9	0	0	0,75	0
10	0	0	0	0
11	0	0	0	0
12	0	0	0	0
13	0	0	0	0
14	0	0	0	0
15	0	0	0	0

Tab. 4: Visuell und kameragestützt ermittelter prozentualer Ährenanteil mit *Fusarium*-Symptomen (N = 20) in Kontrollparzellen der 1. und 2. Wiederholung

Wurden die in Wiederholung 3 und 4 als krank detektierten Objekte in den Binärbildern gezählt und mit den von den 20 bonitierten visuell als krank eingestuften Ähren verglichen, zeigten die Ergebnisse der linearen Regression keinen Zusammenhang (Wdh. 3: B = 0,41, s_R = 28,56, Wdh. 4: B = 0,23, s_R = 16,56). Die Scatterplots wurden aus Platzgründen nicht dargestellt.

Freilandversuche 2009 - Farbbildindustriekamera

Am 26.06. (BBCH 77) und 01.07.2009 (BBCH 83) erfolgten die Bildaufnahmen mit der RGB-Industriekamera Pike F505C IRF16 der Firma Allied Vision Technologies (2452 x 2054 Pixel). Da Sortenunterschiede im Pflanzenhabitus und in der Färbung offensichtlich waren, wurde für jede Sorte neu kalibriert, d.h. die untere und obere Schwelle der Graustufenwerte im R, G, B-Farbkanal einer typischen kranken Ährenregion in der Bildszene (Klassifizierungsmerkmal) für die Binarisierung neu gesetzt. Als Beispiel ist in Abb. 39 das Klassifizierungsergebnis als Binärbild der zwei Sorten aus Abb. 34 dargestellt. Als *Fusarium*-Befall klassifizierte Regionen sind weiß dargestellt.



Abb. 39: Binärbild nach Setzen der unteren und oberen Schwelle der Graustufenwerte im R, G, B-Farbkanal von kranken Ährenregionen der Sorten aus Abb. 34, links: gering anfällige Sorte (Parzelle 2.4), rechts hoch anfällige Sorte (Parzelle 1.4), Aufnahme am 26.06.2009

Der prozentuale Anteil der als krank erkannten weißen Pixel wurde ermittelt und der visuell geschätzten Symptomstärke gegenübergestellt. Getrennt für Wiederholung 3 und 4 zeigen die Scatterplots und die Ergebnisse der linearen Regression in Abb. 40, dass durch die Kamera die visuell bonitierte Symptomstärke in den 15 Sorten am Aufnahmetermin 26.06.2009 ähnlich eingeschätzt wurde.



Abb. 40: Scatterplots zwischen kameradetektiertem Krankheitsbefall (%) und visuell eingeschätzter Symptomstärke (%) an 15 Sorten am 26.06.2009 (oben: 3. Wiederholung, unten: 4. Wiederholung)

Entsprechend der Höhe des Regressionskoeffizienten wurde der visuelle Befall durch die Kamera um 53% bzw. 67% unterschätzt. Diese Unterschätzung fiel nicht so hoch aus im Vergleich zu den Multispektralaufnahmen vom 18.06.2009.

Zwischen der Anzahl als krank detektierter Objekte in den Binärbildern und der Anzahl visuell als krank eingestufter Ähren ergab sich kein Zusammenhang (Wdh. 3: B = 0,45, s_R =

35,55, Wdh. 4: B = 0,56, s_R = 39,54). Die Scatterplots wurden aus Platzgründen nicht dargestellt.

In den Kontrollparzellen ohne künstliche Infektion der Wiederholung 1 und 2, die visuell keinen bzw. vernachlässigbaren geringen Befall aufwiesen, wurde mit der Farbbildindustriekamera jedoch Befall angezeigt (Tab. 5). Besonders die detektierte Objektanzahl (befallene Ähren) war extrem hoch.

Tab. 5: Visuell und kameragestützt ermittelter prozentualer Ährenanteil mit *Fusarium*-Symptomen (N = 20) in Kontrollparzellen der 1. und 2. Wiederholung, in Klammern: Anzahl befallener Ähren der 1. und 2. Wiederholung am 26.06.2009

	Wiederh. 1		Wiederh. 2	
Sorte	visuell	Kamera	visuell	Kamera
1	0,25 (1)	18,0 (255)	0 (0)	19,3 (236)
2	0,75 (1)	8,1 (142)	0 (0)	13,3 (194)
3	0 (0)	4,1 (84)	0 (0)	4,1 (69)
4	2 (2)	12,4 (193)	1,25 (1)	16,1 (230)
5	0 (0)	2,9 (42)	0 (0)	4,1 (65)
6	0,25 (1)	2,6 (51)	1,5 (1)	5,2 (94)
7	0 (0)	4,9 (81)	0 (0)	5,4 (95)
8	0 (0)	7,6 (128)	1,75 (2)	11,3 (147)
9	0 (0)	15,5 (149)	2 (1)	14,0 (140)
10	3,25 (2)	7,2 (120)	0 (0)	8,6 (133)
11	0 (0)	3,4 (60)	0 (0)	6,5 (109)
12	0 (0)	4,5 (74)	0 (0)	7,0 (128)
13	0 (0)	18,2 (210)	0 (0)	19,1 (199)
14	0 (0)	9,3 (151)	0 (0)	14,0 (239)
15	0 (0)	2,7 (20)	0 (0)	4,5 (83)

Auch zum zweiten Aufnahmetermin am 01.07.2009 (etwa eine Woche später) zeigte sich ein ähnliches Bild. Es wurde ein enger linearer Zusammenhang zwischen den Bonitur- und Kameraergebnissen (% Befall) festgestellt (Abb. 41).



Abb. 41: Scatterplots zwischen kameradetektiertem Krankheitsbefall (01.07.2009) und visuell eingeschätzter Symptomstärke (02.07.2009) an 15 Sorten (oben: 3. Wiederholung, unten: 4. Wiederholung)

Entsprechend der Höhe des Regressionskoeffizienten wurde der visuelle Befall durch die Kamera um 56% bzw. 57% unterschätzt. An diesem letzten Termin der Kameraaufnahmen war der Grad der Unterschätzung am geringsten.

Auch bei diesem Aufnahmezeitpunkt war zwischen der Anzahl als krank detektierter Objekte in den Binärbildern und der Anzahl visuell als krank eingestufter Ähren kein Zusammenhang festzustellen (Wdh. 3: B = 0,00, s_R = 49,65, Wdh. 4: B = 0,29, s_R = 37,77). Auf eine Darstellung der Scatterplots wurde aus Platzgründen verzichtet.

In den Kontrollparzellen ohne künstliche Infektion der Wiederholung 1 und 2, die visuell keinen bzw. vernachlässigbar geringen Befall aufwiesen, wurde mit der Farbbildindustriekamera jedoch Befall angezeigt (Tab. 6).

	Wiederh. 1		Wiederh. 2	
Sorte	visuell	Kamera	visuell	Kamera
1	9,5 (1)	26,2 (194)	0 (0)	27,7 (212)
2	0 (0)	18,8 (204)	3,5 (1)	27,2 (179)
3	0 (0)	10,2 (150)	0 (0)	9,8 (127)
4	0 (0)	24,5 (303)	0 (0)	25,4 (352)
5	0 (0)	6,9 (58)	4 (1)	10,9 (158)
6	0 (0)	12,7 (216)	0 (0)	17,0 (276)
7	0 (0)	23,4 (188)	0 (0)	29,0 (158)
8	0 (0)	13,9 (208)	0 (0)	19,1 (155)
9	0 (0)	13,9 (180)	3 (1)	16,4 (216)
10	0 (0)	17,7 (177)	0 (0)	23,9 (265)
11	0 (0)	13,3 (166)	0 (0)	18,4 (236)
12	0 (0)	13,9 (208)	0 (0)	18,7 (266)
13	0 (0)	15,8 (190)	0 (0)	25,5 (226)
14	0 (0)	20,4 (173)	0 (0)	29,1 (126)
15	0 (0)	4,8 (61)	0 (0)	9,4 (103)

Tab. 6: Visuell und kameragestützt ermittelter prozentualer Ährenanteil mit *Fusarium*-Symptomen (N = 20) in Kontrollparzellen der 1. und 2. Wiederholung, in Klammern: Anzahl befallener Ähren der 1. und 2. Wiederholung am 02.07. bzw. 01.07.2009

Von Teilprojekt 1.2 erfolgten ELISA Tests hinsichtlich der beiden Mykotoxinarten DON (Deoxynivalenol, Nachweisgrenze: < 200 μ g kg⁻¹, Bestimmungsgrenze: 200 μ g kg⁻¹) und ZEA (Zearalenon, Nachweisgrenze: 17-41 μ g kg⁻¹, Bestimmungsgrenze: 50 μ g kg⁻¹). Auf Grund der hohen Kosten des ELISA-Tests wurden je Behandlungsvariante (infiziert und nicht infiziert) nur die Wiederholung 1 und 3 beprobt. In Tabelle 5 sind die Testergebnisse dargestellt.

Sorten Nr.	DON	[µg kg⁻¹]	ZEA [µg kg ⁻¹]			
	Wdh. 1	Wdh. 3	Wdh. 1	Wdh. 3		
1	313	>25200	<0	306		
2	0	633	2	157		
3	195	562	11	206		
4	135	>25200	<0	353		
5	186	17429	1	114		
6	2	22931	3	236		
7	11	15201	6	330		
8	112	14259	1	192		
9	0	>25200	<0	217		
10	201	>25200	6	213		
11	14	>25200	3	160		
12	28	>25200	11	181		
13	6	>25200	11	394		
14	16	17237	8	>420		
15	13	22386	7	328		

Tab. 5: Ergebnisse des ELISA-Tests hinsichtlich DON und ZEA-Gehalt der Körner der Sorten 1 bis 15 aus Wiederholung 1 und 3

Die Grenzwerte für unbearbeitetes Getreide liegen bei 1250 µg kg⁻¹ DON und 100 µg kg⁻¹ ZEA. Obwohl nicht völlig mykotoxinfrei, lagen alle Werte in den Kontrollparzellen der Wiederholung 1 deutlich unterhalb der Grenzwerte. Alle Werte der infizierten Parzellen der Wiederholung 3 lagen (mit Ausnahme der Sorten 2 und 3 im DON-Gehalt) über den Grenzwerten. Alle Mykotoxingehalte der infizierten Parzellen waren deutlich höher als die der Kontrollparzellen.

Mit dem *Fusarium*-Pilz befallene Körner weisen in der Regel auch niedrige Kornparameter auf. Zur Überprüfung wurde von jeder Parzelle das Tausendkorn- und Hektolitergewicht bestimmt. In Abb. 42 sind Box-Whisker-Plots (N = 30) dieser zwei Parameter getrennt nach Kontrollparzellen und infizierten Parzellen dargestellt. Die infizierten Parzellen wiesen deutlich geringere Kornertragsparameter auf.



Abb. 42: Box-Whisker-Plots (je N = 30) von Tausendkorn- (TKG) und Hektolitergewicht (HLG) getrennt nach Kontrollparzellen und infizierten Parzellen

Die Ergebnisse aus den Freilandversuchen waren Grundlage für die Erstellung der Software zur Bildverarbeitung durch die Firma SYMACON. Getrennt für die Farbbildindustriekamera und die Multispektralkamera können die jeweiligen Einstellungen während der Bildaufnahmen vorgenommen werden. Eine Kurzbeschreibung des Programms ist im Anhang dargestellt.

II.2. Voraussichtlicher Nutzen, Verwertbarkeit der Ergebnisse

Der Nutzen bzw. die Verwertbarkeit lässt sich in folgenden Punkten zusammenfassen:

- Mykotoxinbelastetes Getreide stellt eine Gefahr für die Gesundheit von Mensch und Tier dar. Der Feldbefall mit pflanzenpathogenen Pilzen der Gattung *Fusarium* ist Ursache erhöhter Gehalte an Deoxynivalenol (DON) und Zearalenon (ZEA) im Erntegut. Bisher ist es in der Praxis nicht möglich, vor der Ernte einen Getreideschlag hinsichtlich des Ausgangsbefalls mit Ährenfusariosen zu bewerten. Wäre der Landwirt in Zukunft in der Lage, den Befall des Getreides mit dem *Fusarium*-Pilz GPS-gestützt einzuschätzen, könnten die Warenströme des Erntegutes gezielt gelenkt werden (z.B. Nahrungsmittel, Futtermittel, Biokonversion).
- Zuverlässige Laboranalysemethoden für Mykotoxine sind mit einem erheblich laboranalytischen Aufwand verbunden und daher sehr teuer. Üblich ist die Entnahme von Mischproben aus einer größeren Getreidemenge, um einen Durchschnittswert im Mykotoxingehalt zu bekommen. Jedoch ist der *Fusarium*-Befall in jedem Jahr und selbst innerhalb eines Jahres von Feld zu Feld unterschiedlich. Ähnlich wie andere Schadorganismen treten Ährenfusariosen innerhalb eines Feldes wahrscheinlich auch nicht gleichmäßig verteilt auf. Um dies bei der Probenahme zu berücksichtigen, wäre eine nicht zu vertretende hohe Stichprobenanzahl notwendig. Eine lückenlose Beprobung

ist daher nicht realisierbar. Eine Detektion des *Fusarium*-Befalls auf dem Feld könnte zu einem effektiveren Stichprobenahmeverfahren für Laboranalysen führen. Von den jeweiligen Getreidepartien wäre der Ausgangsbefall auf dem Feld bekannt und eine zielgerichtete Beprobung könnte erfolgen. Durch dieses geschichtete Stichprobenverfahren (partienweise) könnten der Stichprobenumfang reduziert und die Genauigkeit der Mischproben erhöht werden.

II.3. Fortschritte von anderen Stellen auf dem Gebiet des Vorhabens

Dem Zuwendungsempfänger sind keine Fortschritte auf dem Gebiet von dritter Seite Bekannt.

II.4. Erfolgte und geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse

erfolgt:

- Bauriegel, E.; Beuche, H.; Dammer, K.-H.; Giebel, A.; Herppich, W.B.; Intreß, J.; Rodemann, B. (2009) Determination of head blight on ears of winter wheat by means of hyperspectral and chlorophyll fluorescence image analysis. In: van Henten, E. (eds.): Precision agriculture '09. Joint International Agricultural Conference (JIAC 2009), Wageningen, 06.07.2009-08.07.2009, Wageningen Academic Publishers, Wageningen, the Netherlands, (ISBN: 978-90-8686-113-2), S. 203-210.
- Bauriegel, E.; Herppich, W.B.; Giebel, A.; Dammer, K.-H.; Beuche, H.; Intreß, J., Rodemann, B. (2009) Methods for head blight recognition: chlorophyll fluorescence and hyperspectral image analysis. In: Zude, M. (ed.): Image Analysis for Agricultural Products and Processes - 15. Workshop Computer-Bildanalyse in der Landwirtschaft. 1st International Workshop on Computer Image Analysis in Agriculture held, Potsdam, 27.08.2009-28.08.2009, Bornimer Agrartechnische Berichte. Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. Potsdam-Bornim, (ISSN 0947-7314), S. 176.
- Dammer, K.-H.(2010): Kameragestützte Erfassung von Symptomen der Partiellen Taubährigkeit (Fusarium spp.) in Winterweizen, Vorträge 41. DLG Technikertagung 26.-27.1. 2010, S. 123-128.
- Dammer, K.-H.; Möller, B.; Rodemann, B. (2010) Kameragestützte Detektion von Fusarium-Symptomen in Parzellenversuchen. 23. Jahrestagung der DPG-Projektgruppe Krankheiten im Getreide 1.-2.02.2010, abstract online: http://dpg.phytomedizin.org/show_abstracts.html.
- Hehmke, M.; Dammer, K.-H.; Herppich, W.B.; Hellebrand, H.-J.; Beuche, H.; Rodemann, B. (2007) Digital image analysis for detection of head blight (*Fusarium* spp.) in winter wheat. In: Bleiholder, H. (eds.): Proceedings of the International Symposium 08-10 October 2007. Agricultural Field Trials - Today and Tomorrow, Stuttgart-Hohenheim, 08.10.2007-10.10.2007, Verlag Grauer, Stuttgart, (ISBN 978-3-86186-541-4), S. 56-61.

eingereicht:

- Bauriegel, E.; Herppich, W.B.; Giebel, A. Head blight recognition on winter wheat by means of hyperspectral and chlorophyll fluorescence image analysis. Precision Agriculture.
- Bauriegel, E.; Giebel, A.; Schmidt, U.; Geyer, M; Herppich, W.B. Hyperspektrale Bildanalyse zur frühzeitigen Detektion von Taubährigkeit. Bornimer Agrartechnische Berichte.
- Bauriegel, E.; Giebel, A.; Herppich, W.B. Rapid *Fusarium* head blight detection on winter wheat ears using chlorophyll fluorescence imaging. Journal of Applied Botany.
- Bauriegel, E.; Giebel, A.; Herppich, W.B. Hyperspectral signatures for head blight detection. Computers and Electronics in Agriculture.
- Dammer, K.-H.; Möller, B.; Rodemann, B.; Heppner, D. Detection of head blight (*Fusarium* ssp.) in winter wheat by digital image analyses. Crop Protection.

Dammer, K.-H.; Selbeck, J.; Dworak, V.; Möller, B.; Intreß, J.; Rodemann, B. Erstellen von Binärbildern zur Erfassung von *Fusarium*-Symptomen in Winterweizenfeldern, Bornimer Agrartechnische Berichte.

Literatur zu Teil II

- Balachandran, S.; Hurry, V.M.; Kelley, S.E.; Osmond, C.B.; Robinson, S.A.; Robozinski, J.; Seaton, G.G.R.; Sims, D.A. (1997) Concepts of plant biotic stress. Some insight into stress physiology of virus-infected plants from the perspective of photosynthesis. Physiologia Plantarum 100, 203-213.
- Bazzanezi, R.B.; Amorim, L.; Bergamins, F.A.; Berger, R.D. (2002) Gas exchange and emission of chlorophyll fluorescence during the monocycle of rust, angular leaf spot and anthracnose on bean leaves as a function of their trophic characteristics. Journal of Phytopathology *150*, 37-47.
- Bauriegel, E.; Beuche, H.; Dammer, K.-H.; Giebel, A.; Herppich, W.B.; Intreß, J.; Rodemann. B. (2009) Detection of head blight (*Fusarium spp.*) at ears of winter wheat using hyperspectral and chlorophyll fluorescence imaging. In: E. J. VAN HENTEN, D. GOENSE & C. Lokhorst (EDS.): *Precision Agriculture '09. Proceedings of the Joint International Agricultural Conference.* (pp. 203-210). Wageningen, NL: Academic Publishers.
- Beplate-Haarstrich, L.; von Hörsten, D.; Bobey, K. (2004) Versuche zur Feststellung des Fusariumbefalls von Weizenkörnern mittels photonischer Verfahren. VDI-Berichte Nr. 1855, 91-97.
- Böttger, H.; Langner, H.R.; Ruckelshausen, A. (2004) Messsystem zur Bewertung des Unkrautvorkommens. Bornimer Agrartechnische Berichte *36*, 49-54.
- Bravo, C.; Moshou, D.; Oberti, R.; West, J.; McCartney, A.; Bodria, L.; Ramon, H. (2004) Foliar disease detection in the field using optical sensor fusion. Agricultural Engineering International: the CIGR Journal of scientific research and development. Manuscript FP 04 008. Vol. 6, 14 p.
- Buerstmayr, H.; Lemmens, M.; Berlakovich, S.; Ruckenbauer, P. (1999) Combining ability of resistance to head blight caused by *Fusarium culmorum* (W. G. Smith) in the F1 of a seven parent diallel of winter wheat (*Triticum aestivum* L.). Euphytica *110* (3), 199-206.
- Champeil, A.; Fourbet, J.F.; Dore, T.; Rossignol, L. (2004) Influence of cropping system on *Fusarium* head blight and mycotoxin levels in winter wheat. Crop Protection 23 (6), 531-537.
- Chaerle, L.; de Boever, F.; van Montagu, M.; van der Straeten, D. (2001) Thermographic visualisation of cell death in tobacco and Arabidopsis. Plant, Cell and Environment *24*, 15-25.
- Esfeld, P.; Siebke, K.; Wacker, I.; Weis, E. (1995) Local defense-related shift in the carbon metabolism in chickenpea leaves induced by a fungal pathogen. In: Mathis, P: Photosynthesis from light to biosphere, Vol. 5, Kluwer Academic Publishers B.V., Dordrecht, 663-666.
- ENVI User's Guide: Selected Hyperspectral Methods. www.creaso.com.
- Haberaecker, P. (1989) Digitale Bildverarbeitung. 3. Auflage, Carl Hanser Verlag, Muenchen.
- Herppich, W.B.; Hetz, E.; Dammer, K.-H.; Langner, H.-R.; Beuche, H.; Hellebrand, H.-J. (2005) Einsatzmöglichkeiten der Chlorophyllfluoreszenzbildanalyse zur Erkennung und Bewertung von pilzlichem Pathogenbefall. Bornimer Agrartechnische Berichte *40*, 95-108.
- Kostecki, M.; Kaptur, P.; Wojciechowski, S.; Kaczmarek, Z.; Wisniewska, H.; Golinski, P. (1997) The effect of head blight on reduction of yield traits and moniliformin accumulation in kernels of 17 winter wheat cultivars inoculated with *Fusarium avenaceum*. Plant Breeding and Seed Science *41* (1), 75-82.
- Lüdeker, W.; Dahn, H.-G.; Günther, K.P. (1996) Detection of fungal infection of plants by laser-induced fluorescence: an attempt to use remote sensing. Journal of Plant Physiology *148*, 579-585.
- Meyer, S.; Saccardy-Adji, K.; Rizza, F.; Genty, B. (2001) Inhibition of photosynthesis by *Colletotrichum lindemuthianum* in bean leaves determined by chlorophyll fluorescence imaging. Plant, Cell and Environment *24*, 947-955.
- Miedaner, T.; Schneider, B.; Geiger, H.H. (2003) Deoxynivalenol (DON) content and *fusarium* head blight resistance in segregating populations of winter rye and winter wheat. Crop Science *43* (2), 519-526.

- Moldovan, M.; Moldovan, V.; Botezan, V. (1999) Research on identifying sources of resistance to *Fusarium* head blight (*Fusarium* spp.) in winter wheat (*Triticum aestivum* L.). Analele Institutului de Cercetari pentru Cereale si Plante Tehnice, Fundulea *66*, 99-112.
- Moll, S.; Serrano, P.; Boyle, C. (1995) In vivo chlorophyll fluorescence in rust-infected bean plants. Angewandte Botanik *69*, 163-138.
- Nilsson, H.-E. (1995) Remote sensing and image analysis in plant pathology. Canadian Journal of Plant Pathology *17*, 154-166.
- Oerke, E.C.; Steiner, U.; Dehne, H.-W.; Lindenthal, M. (2006) Thermal imaging of cucumber leaves affected by downy mildew and environmental conditions. Journal of Experimental Botany *57*, 2121-2132.
- Petkova, V.; Denev, I.D.; Cholakov, D.; Porjazov, I. (2007) Field screening for heat tolerant common bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) by measuring of chlorophyll fluorescence induction parameters. Scientia Horticulturae *111* (2), 101-106.
- Pirgozliev, S.R.; Edwards, S.G.; Hare, M.C.; Jeninson, P. (2001) Effect of timing and fungicides on the development of Fusarium head blight (FHB) and accumulation of deoxynivalenol (DON) in winter wheat. In: Tvaruzek, L.: Sustainable systems of cereal crop protection against fungal diseases as the way of reduction of toxin occurrence in food webs. A Healthy Cereals Proceedings, Agricultural Research Institute Kromeriz Publisher, Kromeriz, 221-224.
- Ridgeway, C.; Davies, E.R.; Chambers, J.; Mason, D.R.; Bateman, M. (2002) Rapid machine vision method for the detection of insects and other particulate bio-contaminants of bulk grain in transit. Biosystems Engineering *83*, 21-30.
- Santos, I.C.F.; de Almfida, A.-A.F.; Valle, R.R. (1998) Chlorophyll fluorescence parameters characterizing the development of two cacao genotypes infected by witches' broom. Photosynthetica *35*, 29-39.
- Scholes, J.D.; Rolfe, S.A. (1996) Photosynthesis in localised regions of oat leaves infected with crown rust (*Puccinia coronata*): Quantitative imaging of chlorophyll fluorescence. Planta *199*, 573-582.
- Walther, U.; Flath, K.; Moll, E.; Prochnow, J.; Sachs, E. (2000) Methodische Anleitung zur Bewertung der partiellen Resistenz von Sorten bzw. Linien unter Berücksichtigung epidemiologischer Aspekte. Mitteilungen der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, *374*, 9-25.
- von Willert, D.J.; Matyssek, R.; Herppich, W.B. (1995) Experimentelle Pflanzenökologie, Grundlagen und Anwendungen. Stuttgart, G: Georg Thieme Verlag.
Teilprojekt 1.2. "Indikatoren und Sensortechnik zur Erkennung von Mykotoxinbildnern in der Getreideaufbereitung"

Projektleitung: Christine Idler

Autoren: Michaela Ditz, Veronika Egert, Hans-Gerd Löhmansröben, Michael Kumke, Claudia Rasch, Andreas Walte, Robert Laudien, Frank Lewitzka

Teil I Kurzdarstellung

I.1. Aufgabenstellung

Schimmelpilze und ihre Toxine können die Qualität von Lebens- und Futtermitteln stark beeinträchtigen und stellen ein gesundheitliches Risiko für Pflanzen, Tiere und den Menschen dar. Mykotoxinkontaminationen von Lebens- und Futtermitteln sind ein weltweites Problem. Etwa 20% der Cerealienernte der EU enthalten messbare Mengen von Mykotoxinen. Nach Schätzungen der FAO sind bis zu 25% der Weltproduktion von Nahrungsmitteln mit Mykotoxinen kontaminiert.

Bei Getreide sind vor allem in den Nacherntebereichen Lagerung, Aufbereitung und Verarbeitung häufig belastete Partien zu finden. Aber auch in den Feldbeständen können sowohl regional als auch zeitlich sehr unterschiedliche Vorkommen an Feldpilzen und ihren Mykotoxinen registriert werden. Der Befall der Pflanzen wird im Wesentlichen von Temperatur und Niederschlägen beeinflusst; besonders infektionsanfällig sind die Pflanzen in der Blühphase. Neben Klima –und Witterungsfaktoren beeinflussen jedoch auch agrotechnische Maßnahmen wie Bodenbearbeitung, Fruchtfolge, Düngung, Pflanzenschutzmaßnahmen und die Sortenwahl die Toxinbildung.

Ziel ist die Identifizierung von mit Feld- oder Lagerpilzen oder mit ihren Toxinen belasteten Getreidepartien. Dazu sollen Sensoren zur Geruchsmustererkennung entwickelt sowie die Nutzung spektroskopischer Eigenschaften von Schimmelpilzen bzw. Mykotoxinen geprüft werden. Dabei sollen sowohl die Eigenfluoreszenz als auch das Reflexions- und Absorptionsverhalten untersucht werden. Die Verfahren der Nah-Infrarot-Spektroskopie (NIRS), der laser-induzierten Fluoreszenzspektroskopie (LIFS) sowie der Ionenmobilitätsspektroskopie (IMS) sollen hinsichtlich ihrer Eignung bewertet werden. Die routinemäßige Überprüfung des Pilz- und Toxinbefalls soll mit labormäßigen Standardmethoden erfolgen.

Darüber hinaus sind umfangreiche Grundlagenuntersuchungen und anschließende Entwicklungs- und Erprobungsphasen mit folgenden Schwerpunkten vorgesehen:

 Voruntersuchungen zur Auswahl geeigneter Standardsysteme, Auswahl geeigneter Sensoren bzw. Detektoren, Auswahl der Sensoren nach Aspekten der Sensitivität, Selektivität und Schnelligkeit, Bewertung der Reproduzierbarkeit und Korrelation zwischen den Ergebnissen

- Entwicklung eines Labormusters (Gas-Sensorarray, Schnittstellen, spezifische Software) für Untersuchungen an künstlich inokulierten und natürlich belasteten Proben sowie für Untersuchungen im Gutstrom
- Untersuchungen zur Anpassung und Optimierung des Labormusters, Lösungen zur Kalibrierung und Signalauswertung.

I.2./3. Voraussetzungen, Planung und Ablauf des Vorhabens

Erreicht werden sollen die Ziele auf Basis von Modell- und Pilotversuchen unter Anwendung etablierter Methoden; das Projekt beinhaltet somit mehrere Schwerpunkte:

- Bereitstellung von künstlich und natürlich mit Schimmelpilzen bzw. und/oder Mykotoxinen kontaminiertem Getreide mit unterschiedlichen Feuchtegehalten
- Nachweis der flüchtigen Stoffwechselprodukte, die beim Wachstum von Schimmelpilzen und z.T. bei der Bildung von Mykotoxinen entstehen mittels unterschiedlicher Gassensorenarraysystemen ("elektronischen Nasen" auf Basis von Metalloxidsensoren), Gefahrstoffdetektorenarrays (auf Basis eines Ionenmobilitätsspektrometers, einem Photoionisationsdetektor, einer elektro-chemischen Zelle und Metalloxidsensoren) der Firma Airsense Analytics GmbH
- Erkundung der spektroskopischen Eigenschaften ausgewählter Schimmelpilze und Mykotoxine (Eigenfluoreszenz, Reflexions-, Absorptionsverhalten).

Daraus lassen sich für das Vorhaben folgende wissenschaftlich-technischen Arbeitsziele formulieren:

- Künstliche Inokulation von Getreideproben: einzelne Schimmelpilze, Kombinationen von Feld- und Lagerpilzen, relevante Mykotoxine
- Sammlung natürlich mit Schimmelpilzen und Mykotoxinen belasteten Getreideproben Einsatz von Standard Sensor-Array Systemen zur Analyse künstlich und natürlich kontaminierter Getreideproben sowie von Reinsubstanzen
- Entwicklung eines Labormusters für Untersuchungen an künstlich inokulierten und natürlich belasteten Proben sowie für Untersuchungen im Gutstrom
- Aufbau eines Versuchsstandes für systematische Messungen der spektralen Charakteristik von künstlich und natürlich kontaminierten Getreideproben unterschiedlicher Herkünfte, Erntejahre, Belastungen, Lagerdauer sowie Reinsubstanzen
- Entwicklung eines Labormessplatzes für LIF-Untersuchungen, bestehend aus zu optimierendem Strahlengang in Anregung und Detektion, gepulsten Laserlichtquellen und zeitaufgelöster Detektion zur Unterdrückung von Hintergrundsignalen
- Entwicklung und Optimierung eines Labormessplatzes zur Untersuchungen des Luft-Staub-Gemischen mittels Ionenmobilitätsspektrometrie (IMS)
- Bestimmung der Charakteristika der Methoden hinsichtlich ortsaufgelöster Messungen in Getreide im Labor (Bandfördereinrichtung) sowie am Versuchssilo

- Erkenntnisse über die Möglichkeiten der erfolgreichen Entwicklung praxisverwertbarer Sensorenkombinationen für Getreide und andere relevante Güter für das gezielte und dokumentierte Ausschleusen von mit Schimmelpilzen oder ihren Toxinen belasteten Partien.

I.4. Wissenschaftlicher und technischer Stand

Die Belastung von Getreide durch Feldpilze führt in Deutschland regelmäßig zur Beanstandung von Futtermittelproben bezüglich ihrer Toxinbelastung. Beispielsweise wurden in Bayern im Erntejahr 2001 bedenkliche Deoxynivalenol (DON)-Gehalte (>0,5 mg/kg) in 67% der Mais-, 32% der Hafer-, 22% der Weizen- und in 10% der Mischfutterproben gefunden. Bedenkliche Zearalenongehalte (>0,1 mg/kg) wurden in 13% der Mais-, 5% der Triticale- und 3% der Weizenproben festgestellt. Im Erntejahr 2000 lag der DON-Gehalt bei 21% der Weizen-, 16% der Triticale- und 7% der Futtermischungen über dem (damaligen) Orientierungswert von 1,0 mg/kg Futter (Niemeyer und Rattenberger 2001; 2002).

Die routinemäßige Überprüfung des Pilz- und Toxinbefalls soll mit labormäßigen Standardmethoden erfolgen. Ein sehr guter Überblick über aktuelle Nachweisverfahren von Mykotoxinen wird bei Magan und Olsen gegeben. Die klassischen Verfahren eignen sich jedoch nicht für eine schnelle vor Ort Analytik.

Im Projekt sollen Grundlagen für eine Echtzeitsensorik zur Bestimmung, Steuerung und Regelung der Produktqualität im Nacherntebereich verschiedener Produktlinien von Getreide entwickelt werden.

Eine Möglichkeit ist die Untersuchung der Oberflächen der Getreidekörner durch spektroskopische Verfahren. Diese werden von den Projektpartnern der Universität Potsdam und der Fa. Optimare Analytik GmbH & Co KG untersucht.

Eine andere Möglichkeit ist die Untersuchung der gasförmigen Verbindungen, wie z.B. der Stoffwechselprodukte bei Anwesenheit von mykotoxinbildenden Schimmelpilzen. Diese Möglichkeit ist von der Fa. Airsense Analytics und später auch von der Fa. Optimare Analytik GmbH & Co. KG verfolgt worden. Ein schneller Nachweis der gasförmigen Verbindungen kann mit Anordnungen von unterschiedlichen Gassensoren erfolgen.

Solche Gassensorenarrays, welche gekoppelt mit Mustererkennungssoftware auch elektronische Nasen genannt werden, sind erstmals in den 80er Jahren beschrieben worden. Als Gassensoren werden Schwingquarze (quartz microbalance monitor QCM, surface acoustic wave SAW) oder auch Halbleitergassensoren verwendet (Nagle *et al.* 1998). Als Halbleiter werden Metalloxidsensoren wie auch organische Polymere eingesetzt.

Metalloxidsensoren sind die einzigen Sensoren, die bei Temperaturen über 200°C betrieben werden. Es sind bisher unterschiedliche Metalloxide, wie z.B. Zinn-, Zink-, Wolfram- und Titanoxide eingesetzt worden.

Das Messsystem PEN3 von Airsense Analytics GmbH ist standardmäßig mit 10 unterschiedlichen Metalloxidsensoren bestückt und verfügt über spezielle Probenahmeverfahren, wie z. B. die integrierte Verdünnungseinheit oder die optionale Anreicherungs- und Thermodesorptionseinheit. Airsense Analytics GmbH verfügt neben den Gassensorenarrays für Laboranwendungen auch über Messsysteme, die für die Prozesskontrolle geeignet sind, z.B. das KegControl System, bei dem im 5-Sekunden Takt nach Kontaminationen in recycelten Bierfässern gesucht wird. Zusätzlich gibt es Systeme auf der Basis von heterogenen Sensorarrays (GDA), bei denen durch Kombination von Detektoren unterschiedlicher Funktionsweise die Selektivität für bestimmte Anwendungen verbessert wird.

Gegenwärtig sind ca. 200 MVOC (microbial volatile organic compounds) identifiziert worden. Ihre Bildung ist abhängig von verschiedenen Bedingungen: von der Temperatur, dem Nährboden bzw. dem Substrat und dem Alter der Kulturen. Einige MVOC sind stammspezifisch, andere gattungsspezifisch.

Bei Olsson *et al.* (2002) ist der Ansatz untersucht worden, ob flüchtige Produkte des Stoffwechsels von Pilzen zum Nachweis von Mykotoxinen geeignet sind. Es wurden u.a. die flüchtigen Stoffwechselprodukte analysiert, unter Verwendung von Gassensorarrays sowie der Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS). Proben ohne Fehlgerüche hatten keine nachweisbaren Ochratatoxin A Gehalte (OTA) und einen durchschnittlichen DON-Gehalt von 16 µg/kg. Proben mit Fehlgerüchen wiesen im Durchschnitt OTA-Gehalte von 76 µg/kg und DON-Gehalte von 69 µg/kg auf. Es war möglich, die Proben am vorgegebenen Grenzwert von 5 µg/kg unter Anwendung statistischer Methoden zu klassifizieren. Proben mit OTA-Gehalten über 5 µg/kg wiesen höhere Konzentrationen von Ketonen (*2-hexanone, 3octanone*) auf. Mit einem GC-MS System wurde bei der Klassifizierung nach OTA-Konzentrationen eine höhere Genauigkeit (3 Fehlklassierungen von 37) als mit dem Sensorarraysystem (7 Fehlklassierungen von 37) erreicht. Es wurde keine Korrelation zwischen Fehlgeruch und OTA-Gehalten festgestellt, da Proben mit ausgeprägten oder starken Fehlgerüchen OTA-Gehalte sowohl unter als auch über 5 µg/kg aufwiesen.

In Schnürer *et al.* (1999) sind weitere umfangreiche Analysen zur Zusammensetzung der flüchtigen Komponenten des primären und sekundären Stoffwechsels von *Aspergillus, Fusarium,* and *Penicillium* genannt, die zur ihrer Erkennung mit Sensorarraysystemen verwendet werden können. Verbreitete flüchtige Substanzen sind 2-*methyl-1-propanol, 3-methyl-1butanol, 1-octen-3-ol, 3-octanone, 3-methylfuran* und *ethyl acetate* sowie die übel riechenden Substanzen 2-*methyl-isoborneol* und *geosmin.* Flüchtige *sesquiterpene* können zur taxonomischen Klassifizierung und Artenerkennung von Penicillium ebenso herangezogen.

I.5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Folgende Teilaufgaben wurden von den Projektpartnern bearbeitet:

Von der **Universität Potsdam**, Institut für Chemie wurde das Potential von ausgewählten optisch-basierten spektroskopischen Methoden für die in-situ bzw. in-line Detektion von Pilzen sowie Mykotoxinen in Getreide(produkten) untersucht. Die spektroskopischen Methoden wurden dabei auf Proben unterschiedlicher Komplexität angewandt – beginnend mit Untersuchungen von reinen Mykotoxinen in Lösung über künstlich mit verschiedenen Mykotoxinen kontaminierten Getreideproben bis hin zu mit Pilzen befallenem Getreide als Proben höchster Komplexität.

Die Firma **Airsense Analytics GmbH** untersuchte das Luft-Gemisch über Getreideproben mittels vorhandener Standardsysteme. Die Änderung der Zusammensetzung des Luft-

Gemisches durch verpilzte bzw. mit Toxinen belastete Getreidekörner wurde sensortechnisch erfasst und ausgewertet.

Die Firma **Optimare Analytik GmbH & Co. KG** beteiligte sich an den fluoreszenzspektroskopischen Untersuchungen der Uni Potsdam, konzentrierte sich aber dort hauptsächlich auf die Modellierung der Lichtausbreitung in der Probe in Abhängigkeit von deren optischen Eigenschaften. Darauf aufbauend wurde ein Konzept für einen einfachen Sensor auf Basis der Fluoreszenzspektroskopie entwickelt. Als weitere Nachweismethode für Schimmelpilze wurde die Laser-IMS eingesetzt und weiterentwickelt, mit der Metaboliten von Pilzen in der Gasphase nachgewiesen werden können. Hier wurde teilweise mit der Bundesanstalt für Materialforschung zusammengearbeitet.

Am Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. wurde Getreide mit verschiedenen Schimmelpilzen infiziert, Getreideproben mit unterschiedlichen Mykotoxinen dotiert und natürlich kontaminierte Proben gesammelt. Für die Infizierung wurden Pilzstämme aus Stammsammlungen folgender Institute bezogen: Max Rubner Institut (MRI), Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel, Detmold, Julius Kühn Institut (JKI), Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland und Universität Hohenheim, Landessaatzuchtanstalt. Alle Getreideproben wurden mittels Standardmethoden bezüglich des Pilzbesatzes und der Myktoxingehalte untersucht und der Universität sowie der Firma Airsense Analytics GmbH zur Verfügung gestellt.

Teil II Eingehende Darstellung

II.1. Erzielte Ergebnisse

Bereitstellung von Probenmaterial

(Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V.)

Für die spektroskopischen und gassensorischen Untersuchungen wurden den Projektpartnern verschiedene Roggen- und Weizenproben zur Verfügung gestellt. Das Getreide wurde in Form von unbehandelten, sterilisierten, wiederbefeuchteten sowie künstlich inokulierten Körnern bereit gestellt. In einigen Jahren war es auch möglich, natürlich kontaminiertes Getreide in die Untersuchungen einzubeziehen.

Auswahl und Charakterisierung des Getreides

Für die Versuche standen Roggen und Weizen, bezogen von der Saatgutfirma S.G.L. GmbH Alttrebbin-Altlewin, zur Verfügung.

<u>Roggen</u> wurde zunächst aufgrund der regionalen Anbaustrategien ausgewählt. Im Verlauf der Untersuchungen erwiesen sich allerdings die Inhomogenität und starke Variabilität in Form, Farbe und Größe der Körner des Getreides als problematisch vor allem für die spektroskopischen Modelluntersuchungen (Abb. 1).



Abb. 1: Variabilität des Roggens in Korngröße, Kornform und Kornfarbe

Bei dem von der Saatgutfirma bezogenen Roggen handelte es sich um völlig unaufbereitetes Material. Das Erscheinungsbild des Probenmaterials war entsprechend inhomogen und es wurde ein hoher Besatz mit zusätzlichen Bestandteilen der Proben vorgefunden. Fallweise bestand das Untersuchungsmaterial sogar aus unterschiedlichen Roggensorten, die sich in der Gestalt ihrer Karyopsen erheblich unterschieden. Darüber hinaus wurden hohe Anteile an kleinem Schmachtkorn, Spreu und Bruch in den Proben, ebenso wie Unkrautsamen gefunden.

Die Bestimmung der unerwünschten Bestandteile im Untersuchungsmaterial erfolgte nach der Referenzmethode der EU-Verordnung 824/2000, Anhang III über Siebung und Selektion. Im Einzelnen wurden in den untersuchten Proben im Mittel folgende Verunreinigungen ermittelt: 4,3% Bruchkorn, 0,1% Verunreinigungen, 1,0% Achänen mit Keimverfärbungen, 1,8% anderes Getreide (meist Weizen), 0,1% Mutterkorn, 3,6% Schmachtkorn und 0,3% sonstige Arten. Somit bestand das Untersuchungsmaterial aus 88,70% einwandfreiem Grundgetreide (Domsch 1998). Als andere Arten finden sich vornehmlich Samen von *Vicia spp., Raphanus*

raphanistrum und *Centaurea cyanus*. Grassamen wie *Elymus repens* und *Bromus spp*. sowie *Galium, Polygonum* und weitere Arten können als typischer Unkrautbesatz einer Getreideprobe angesehen werden. Damit liegt der Besatz des Untersuchungsmaterials über dem erlaubten Prozentanteil von insgesamt 5%, ebenso sind die Höchstmengen für die Komponenten Schwarzbesatz (0,5%), Kornbesatz (1,5%) und Bruchkorn (2%) deutlich überschritten. Da es sich um Rohware handelt, wird die reguläre Aufbereitung mittels Sieben, Sichten und weiteren Schritten vor dem Vermahlen den Roggen auf eine EU-konforme Qualitätsstufe bringen.

<u>Weizen</u> stellte als Untersuchungsmaterial durch die Homogenität im Korn und die bereits vorliegenden Erfahrungswerte im Bereich der Anzucht von Schimmelpilzen sowie im Mykotoxinbereich eine Alternative dar. Eingesetzt wurde gereinigter E-Weizen der Sorte CAPO. Aufgrund des hohen Grades der Reinigung wurde von einer Besatzanalyse für den Weizen abgesehen.

Die Angaben zu den Inhaltsstoffen und dem Feuchtegehalt des Getreides, sowohl Weizen wie auch Roggen, sind in Tab. 1 zusammengestellt.

Parameter	Trockenmasse	Feuchtgehalt	Stärke	Rohprotein	Rohasche
Dimension	% FM	%	% TM	% TM	% TM
Roggen	89,65	10,35	57,94	11,26	1,95
Weizen	87,81	12,19	60,20	18,69	1,86
Angewandte Methode	VDLUFA MB. Bd	.3, Kap. 3.1	VDLUFA MB. Bd.3, Kap. 7.21.1	VDLUFA MB. Bd.3, Kap. 4.1.2	VDLUFA MB. Bd.3, Kap. 8.1

Tab. 1: Inhaltsstoffe der verwendeten Getreidearten

Triticale

Triticaleproben wurden nur in sehr geringer Anzahl in die Untersuchungen mit einbezogen. Dies waren 20 Proben aus einem Vorerntemonitoring 2009 des Landes Brandenburg.

Natürlich kontaminiertes Getreide

Im Projektzeitraum wurden aus unterschiedlichen Quellen natürlich kontaminierte Getreidepartien bezogen und für Untersuchungen zur Verfügung gestellt.

Solche Getreideproben wurden vom Zentrum für Agrarlandschaftsforschung Müncheberg e.V. (ZALF) und vom Institut für Getreideverarbeitung Nuthetal (IGV) zur Verfügung gestellt (Tab. 2). Desweiteren stammten Proben aus Erhebungen vor der Ernte des Landes Brandenburg. Im Jahr 2008 wurden Ernte- und Lagerproben aus zwei Agrarbetrieben in die Untersuchungen einbezogen. Die Proben wurden auf die Gehalte an den Fusarientoxinen Deoxynivalenol (DON) und Zearalenon (ZEA) untersucht, die Lagerproben zusätzlich auf Ochratoxin A (OTA). Nach der Verordnung (EG) Nr. 856/2005 gelten die Höchstmengen für die *Fusarium*-Toxine DON von 1250 µg/kg und ZEA von 100 µg/kg für unverarbeitetes Getreide mit Ausnahme von Mais. Der Grenzwert für OTA beträgt 5 µg/kg ((EG) Nr. 472/2002).

Die natürlich kontaminierten Proben wiesen Gehalte unter und über den geltenden Höchstmengen auf. Insgesamt wurden 166 Proben gefunden, die unterhalb der DON-Nachweisgrenze lagen, 11 Proben im Bereich des Grenzwertes und 52 Proben, die den Grenzwert deutlich überstiegen.

Die Mykotoxinkonzentrationen der untersuchten Proben auf ihren ZEA-Gehalt ergaben bei 48 Proben einen Wert unterhalb und bei 17 einen Wert oberhalb des Grenzwertes von 100 μ g/kg ((EG) Nr. 856/2005).

Bei der Bestimmung des Ochratoxingehaltes wurden 35 Proben mit Gehalten unterhalb des Grenzwertes von 5 μ g/kg ermittelt ((EG) Nr. 472/2002). Natürlich kontaminierte Proben mit OTA-Gehalten oberhalb des Grenzwertes standen nicht zur Verfügung.

Herkunft	Proben- anzahl	Getreide- art	Deoxynivalenol in µg / kg	Zearalenon in μg / kg	Ochratoxin A in μg / kg
ZALF, 2006	24	Weizen	< NWG – 1.884	< NWG	n.u.
IGV Nuthetal, 2007	46	Weizen	< NWG – 33.000	n.u.	n.u.
ZALF, 2007	30	Weizen	< NWG – 20.000	<nwg -="" 740<="" td=""><td>n.u.</td></nwg>	n.u.
ZALF, 2007	15	Weizen	< NWG – 5.028	< NWG – 387	n.u.
ZALF, 2008	31	Weizen	< NWG – 326	< NWG	n.u.
Ernteproben, 2008	55	Roggen	< NWG	n.u.	n.u.
Ernteproben, 2008	23	Weizen	< NWG	n.u.	n.u.
Ernteproben, 2008	64	Triticale	< NWG	n.u.	n.u.
Lagerproben, 2008	19	Roggen	< NWG	n.u.	0 - 3,4
Lagerproben, 2008	15	Weizen	< NWG	n.u.	0 – 1,9
Lagerproben, 2008	15	Triticale	< NWG	n.u.	0 – 1,3
IGV Nuthetal, 2009	47	Weizen	< NWG – 2.300	n.u.	n.u.
Vorerntemonitoring Brandenburg 2009	20	Triticale	< NWG – 8.900	< NWG - 147	n.u.

Tab. 2: Mykotoxingehalte natürlich kontaminierter Getreideproben verschiedener Herkünfte

n.u. nicht untersucht

Nach den Verordnungen (EG) Nr. 856/2005 und (EG) Nr. 472/2002 gelten für unverarbeitetes Getreide mit Ausnahme von Mais folgende Höchstmengen: DON: 1250 µg/kg, ZEA: 100 µg/kg, OTA: 5 µg/kg. Nachweisgrenzen im ELISA-Test: DON: 0,2 ppm, ZEA: 41 ppb, OTA: 1 ppb.

Infektion mit Pilzstämmen

Bei dem für die Untersuchungen eingesetzten Getreide handelte es sich unbehandeltes Ernte- bzw. Lagergut, das eine natürliche Mikroflora aufwies. Für die Durchführung der Arbeiten war es daher von großer Bedeutung, eine Sterilisation des Getreides durchzuführen, um dann eine gezielte Beimpfung mit den Schimmelpilzen vornehmen zu können.

Zur Sterilisation stehen prinzipiell verschiedene Methoden zur Auswahl. Zum einen die chemische Desinfektion mit Natriumhypochloritlösung, zum anderen physikalische Verfahren, wie die Sterilisation in strömendem Dampf, das Autoklavieren, Mikrowellenbehandlung, Bestrahlung mit γ -Strahlen oder Elektronenbeizung.

Die chemische Desinfektion beseitigt nur die äußere Flora, so dass die im Innern des Kornes lebenden Mikroorganismen unter günstigen Bedingungen auskeimen können. Es wurde deshalb auf die Anwendung dieser Methode verzichtet.

Von den verschiedenen physikalischen Möglichkeiten zur Sterilisierung des Getreides, wie Sterilisation in strömendem Dampf, Dampfdrucksterilisation, Mikrowellenbehandlung und Bestrahlung mit γ-Strahlen, erwies sich die Methode der γ-Bestrahlung als die günstigste Variante. Die Firma Gamma-Service Recycling GmbH, Radeberg, sterilisierte Getreide durch Strahlungsdosen im Bereich 7,2-7,8 kGy, 26,6-28,6 kGy und 56,1-60,2 kGy. Durch alle drei Bestrahlungsmengen konnte steriles Getreide erzeugt werden.

Die Messungen mittels Nah-Infrarot-Spektroskopie, Reflexions-Spektroskopie und laserinduzierter Fluoreszenz (LIF) an der Universität Potsdam oder die gassensorischen Messungen von AIRSENSE Analytics GmbH wurden dadurch nicht beeinträchtigt. Für weitere Versuche wurde ausschließlich die Strahlendosis von 7,2-7,8 kGy angewandt. Dabei handelt es sich um eine mittlere Strahlendosis, die ausreicht, um die meisten Mikroorganismen abzutöten oder ein Wachstum zu unterdrücken. Die Bestrahlung von Lebensmitteln bis zu einer Dosis von 10 kGy stellt laut eines Expertengutachtens zur Lebensmittelsicherheit der Universität Wien kein toxikologisches Risiko dar (IfEW, 1999). Unterschiedliche Mengen von Roggen und Weizen, unterverpackt zu 100 g, wurden γ -sterilisiert und bis zum Verbrauch bei 4°C gelagert.

Für ihr Wachstum benötigen Pilze hohe Feuchtigkeitsgehalte sowie optimale Temperaturen. Eine geeignete Methode zur Befeuchtung von sterilem Roggen und Weizen wurde erarbeitet.

Zu Beginn des Projektes wurden große Probenmengen mittels Vertikalmischer auf definierte Gutfeuchten eingestellt. Das Verfahren erwies sich als funktionsfähig. Probleme traten jedoch bei der anschließenden Lagerung der relativ großen Mengen des feuchten Getreides auf (Abb. 2 und 3).



Abb. 2: befeuchtete Roggenkörner Gutfeuchte 17%



Abb. 3: Fortgeschrittener Verderb von Roggen-Mycelien an Keimanlagen

Im Rahmen weiterer Versuche zeigte sich, das die direkte Befeuchtung von kleinen Getreidemengen (5-8 g) in Petrischalen mit einem Durchmesser von 5,5 cm bzw. Probenflaschen (40 ml Gewindeflasche 95 x 27,5 mm) effizienter war. Die zu befeuchtenden Proben wurden mit der notwendigen Wassermenge 48 h bei 4°C inkubiert. Für weitere Untersuchungen wurden lagertrockene Roggen- und Weizenkörner zeitnah auf Feuchtigkeitsgehalte zwischen 11% und 28% eingestellt.

Im Projektzeitraum wurden den Partnern insgesamt 259 Proben für Untersuchungen von sterilem Weizen und Roggen unterschiedlicher Feuchtegehalte zur Verfügung gestellt.

Für die künstliche Inokulation mit Schimmelpilzen wurde die Stammsammlung des ATB im Projektzeitraum um neue Pilzisolate erweitert. Derzeit umfasst die Sammlung 45 Schimmelpilzstämme unterschiedlicher Herkunft, die zur Feld- bzw. Lagerflora gehören, und von denen das Toxinbildungsvermögen bekannt ist (Tab. 3).

Herkunft	Schimmelpilzspezies
Max Rubner Institut (MRI) Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel, Detmold	Alternaria infectoria Alternaria spec. Penicillium verrucosum
Julius Kühn Institut (JKI) Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland	Fusarium graminearum Fusarium graminearum Fusarium culmorum
Universität Hohenheim, Landessaatzuchtanstalt	Fusarium graminearum Fusarium culmorum

Tah	3. Herkunft	der nro	iekthezoaenen	Schimmel	nilzenezies
rau.	J. HEIKUIIIL	uer pro	Jekibezogenen	SCHIITINE	plizspezies

Für weitere Untersuchungen wurden unterschiedlich feuchte Weizen- und Roggenkörner mit verschiedenen Schimmelpilzen aus dem Bereich der Feld- bzw. Lagerflora inokuliert (Tab. 4 und 5). Für Vergleichsuntersuchungen wurden dieselben Spezies auch als Reinkulturen auf Nährmedium angelegt.

Getreideart	Spezies	Getreidefeuchte in %
Roggen	Alternaria spec.	25
Roggen	Fusarium culmorum	11, 21, 25
Roggen	Fusarium graminearum	21, 25
Roggen	Fusarium poae	25
Weizen	Alternaria spec.	25
Weizen	Fusarium culmorum	25
Weizen	Fusarium graminearum	25
Weizen	Fusarium poae	21, 25

Tab. 4: Schimmelpilzstämme aus dem Bereich der "Feldflora" für die künstliche Inokulation von Roggen und Weizen

Tab. 5: Schimmelpilzstämme aus dem Bereich der "Lagerflora" für die künstliche Inokulation von Roggen und Weizen

Getreideart	Spezies	Getreidefeuchte in %
Roggen	Aspergillus niger	25
Roggen	Aspergillus versicolor	25
Roggen	Penicillium verrucosum	25
Roggen	Penicillium chrysogenum	25
Weizen	Aspergillus niger	21, 25
Weizen	Aspergillus versicolor	25
Weizen	Penicillium verrucosum	21, 25
Weizen	Penicillium chrysogenum	25

Die Inokulationsansätze für spektroskopische Modelluntersuchungen an der Universität Potsdam erfolgten in Petrischalen (Ø 5,5 cm) (Abb. 4), für die Untersuchungen des Headspace durch die Fa. Airsense Analytics GmbH in Probenfläschchen (40 ml) (Abb. 5).

Insgesamt wurden 461 Kornproben sowohl für spektroskopische (217 Proben) als auch für gassensorische (244 Proben) Untersuchungen bereit gestellt.



Abb. 4: Weizen inokuliert mit Fusarium culmorum



Abb. 5: Anzucht von Pilzen zur Untersuchung des Headspace

Aufgrund von Problemen bei der Anzucht von inokuliertem Getreide in den geschlossenen Penicillien-Flaschen wurden die weiteren Anzuchten in Spezialbeuteln *Full-Gas Microsac* (Fa. SACO₂) vorgenommen (Abb. 6 und 7). Diese Anzuchtbeutel besitzen ein Filtersystem, das einen Gasaustausch zulässt, einen Flüssigkeitsverlust allerdings verhindert. Das Filtersystem ist zudem für Pilzsporen undurchlässig.



Abb. 6 unbehandelter Weizen in einem *Full-Gas Microsac* (Fa. SACO₂)



Abb. 7:Weizen inokuliert mit *Penicillium verrucosum* (nach 8d) in einem *Full-Gas Microsac* (Fa. SACO₂)

Das in den Anzuchtbeuteln inokulierte Getreide wies bei 25% Gutfeuchte und 25°C ein gutes Pilzwachstum auf. Durch diese positiven Resultate wurde nach einigen Testversuchen das Filtersystem auch als Verschluss der Probenfläschchen für die Headspace Untersuchungen eingesetzt.

Induzierung der Mykotoxinbildung

Um künstlich eine Mykotoxinbildung im Getreide nach Inokulation von mykotoxinbildenden Pilzen zu induzieren, wurden unterschiedliche Versuchsbedingungen auf ihre Eignung getestet.

Neben der Temperatur haben Wasseraktivität, pH-Wert und chemische Zusammensetzung des Substrates sowie die Zusammensetzung der Atmosphäre und die Jahreszeit Einflüsse auf die Bildung und Ausscheidung vom Mykotoxinen durch Schimmelpilze.

Als Wasseraktivität (a_w -Wert) wird der für Organismen verfügbare, ungebundene Wasseranteil verstanden (Weidenbörner 1998). Er errechnet sich aus dem Verhältnis des Wasserdampfdruckes über dem Substrat zum Wasserdampfdruck über reinem Wasser. Die Wasseraktivität wird von der Temperatur, dem pH-Wert, wesentlicher jedoch von der chemischen Zusammensetzung des Substrates beeinflusst. Ionen und niedermolekulare Verbindungen (z.B. Zucker) haben eine hohe Wasserbindungskraft, wohingegen hochmolekulare Stoffe (z.B. Proteine, Hemicellulosen und Cellulosen) ein sehr geringes Wasserbindungsvermögen haben. Der Zusammenhang zwischen a_w -Wert und der relativen Luftfeuchtigkeit (R.H.), die im Gleichgewicht mit dem Substrat über diesem herrscht, wird von Scott (1957) durch folgende Gleichung ausgedrückt: R.H. (%) = $a_w \cdot 100$.

Sporenkeimung, Mycelwachstum und Mykotoxinbildungen benötigen z.Z. unterschiedliche Wasseraktivitäten bei einzelnen Schimmelpilzen. Unter 17% Wassergehalt (a_w 0,83) werden kaum nennenswerte Mengen an Toxinen gebildet (Tab. 6).

Tab. 6: a_w-Werte verschiedener Pilzgattungen für Wachstum und Mykotoxinbildung (Hope *et al.* 2005; Pardo *et al.* 2004 & 2005)

Spezies	a _w - Wert Wachstumsoptimum	a _w - Wert Toxinbildung
Fusarium graminearum	0,9 – 0,995	0,95 – 0,995
Fusarium culmorum	0,9 – 0,995	0,8 - 0,85 / > 0,9
Aspergillus sp.	0,77 – 0,78	0,80 – 0,99
Penicillium sp.	0,82	0,83 – 0,99

Die notwendigen a_w-Werte für die Toxinbildung liegen meist deutlich höher als die für das Wachstum der Pilze erforderlichen. Dies gilt insbesondere für Patulin, Penicilliumsäure und Ochratoxin A. Hierfür sind a_w-Werte von 0,90 bis 0,93 notwendig (Reiß 1997). Für die Bildung von Zearalenon auf Mais durch *Fusarium graminearum* bei 25°C sind a_w-Werte von mindestens 0,95 notwendig.

Die Messung des a_w-Wertes erfolgt mittels eines Novasina Labmaster der Firma PEDAK meettechniek bv. Soll erreicht werden, dass inokulierte Pilzstämme auf sterilem Weizen Mykotoxine produzieren, dann muss für jeden Stamm zunächst ein Anzuchtregime für den Pilz und anschließend ein Regime für die Mykotoxinproduktion erarbeitet werden. Da diese Prozedere sehr zeitintensiv sind, wurden nur einige Versuchsreihen durchgeführt. Da bisher ausreichend natürlich kontaminiertes Getreide zur Verfügung stand, waren diese aufwendigen Versuche nicht essenziell notwendig.

Für alle Ansätze wurde steriler Weizen auf einen Feuchtegehalt von 25% befeuchtet. Das entspricht einer Wasseraktivität von 0,96-0,99 und liegt damit im Bereich der Mykotoxinbildung durch Schimmelpilze. Die Versuchsansätze unterschieden sich in der Inokulationsform und Inokulationsmenge sowie den Anzuchtgefäßen. Die Inkubation erfolgte über einen Zeitraum von mehreren Wochen bei 25°C. In regelmäßigen Abständen wurden Proben zur Bestimmung des Toxingehaltes mittels kompetitiven Enzymimmunoassays (ELISA) entnommen und analysiert. Die Ergebnisse der ELISA-Tests sind in Tab. 7 zusammengefasst. Die für diese Untersuchungen eingesetzten Isolate zeigten eine hohe Toxinbildungsrate sowohl auf Roggen als auch auf Weizen.

Bereits nach einer Wachstumszeit von wenigen Tagen konnten bei allen inokulierten Varianten sehr hohe Gehalte nachgewiesen werden. Die für die Mykotoxine geltenden EU-Höchstgehalte für unverarbeitetes Getreide ((EG) Nr. 856/2005, (EG) Nr. 472/2002) konnten bei allen Versuchen (Ausnahme: unbeimpfte Kontrolle) bereits nach sieben Tagen deutlich überschritten werden. Die Mykotoxinkonzentrationen erreichten im weiteren Beprobungszeitraum Werte, die zum Teil nur durch Verdünnung der Proben ermittelt werden konnten. Den Partnern wurden zur Vermessung Proben aus diesen Versuchen zur Verfügung gestellt.

Inokulierter Pilz	Getreideart	Deoxynivalenol in µg / kg	Ochratoxin A in μg / kg
P. verrucosum, ATB-Nr. 280	Weizen	n.u.	6,4 - 70,6
P. verrucosum, ATB-Nr. 280	Weizen	n.u.	36,7 - > NWG
P. verrucosum, ATB-Nr. 280	Roggen	n.u.	3,4 - 55,0
Aspergillus niger, ATB-Nr. 216 Aspergillus niger, ATB-Nr. 216	Weizen Roggen	n.u.	> 77 > 75.6
			,.
<i>F. graminearum</i> ATB-Nr. 279	Weizen	3100 - 3800	n.u.
F. graminearum ATB-Nr. 279	Roggen	> 6300 - > 11.000	n.u.
F. culmorum, ATB-Nr. 277	Weizen	3100 - >11.000	n.u.
F. culmorum, ATB-Nr. 277	Roggen	9200 - > 11.000	n.u.

Tab. 7: Mykotoxingehalte nach Inokulation von Getreide mit verschiedenen Schimmelpilzen

n.u. nicht untersucht

Nach den Verordnungen (EG) Nr. 856/2005 und (EG) Nr. 472/2002 gelten für unverarbeitetes Getreide mit Ausnahme von Mais folgende Höchstmengen: DON: 1250 μ g/kg, ZEA: 100 μ g/kg, OTA: 5 μ g/kg. Nachweisgrenzen im ELISA-Test: DON: 0,2 – 6,3 ppm, ZEA: 41 – 400 ppb, OTA: 1 - 36 ppb

Mykotoxinbestimmung

Schimmelpilze können ein breites Spektrum an Mykotoxinen bilden. Die giftigen Substanzen der filamentösen Pilze sind sekundäre Stoffwechselprodukte, die sowohl gegen Pflanzen, Tiere und Menschen als auch gegen Mikroorganismen wirken können. Unter natürlichen Bedingungen bilden Schimmelpilze oft mehrere Mykotoxine und zahlreiche Derivate (Bischoff 1998). Die Vertreter der Gattung *Fusarium* sind in der Lage, eine Vielzahl verschiedener toxischer Sekundärmetabolite, die zu unterschiedlichen chemischen Stoffklassen gehören, zu bilden. Zu den wichtigsten Mykotoxinen der Gattung zählen die Trichothecene, das

ZEA, sowie die Fumonisine und das Moniliformin (Meier 2003). Ochratoxin A (OTA) ist ein sekundäres Stoffwechselprodukt von Stämmen der Lagerpilz-Gattungen *Aspergillus* und *Penicillium*. Bei einem *Fusarium*-Befall werden DON und ZEA bereits auf dem Feld gebildet und verbleiben auch nach der Ernte im Korn. OTA kann zusätzlich im Erntegut durch Lagerpilze gebildet werden und somit die Belastung mit Mykotoxinen während der Lagerung erhöhen.

Die Bestimmung der Toxine DON, ZEA und OTA, erfolgt am ATB durch kommerziell erhältliche kompetitive Enzymimmunoassays (ELISA) der Fa. r-Biopharm. Es handelt sich hierbei um ein immunologisches Nachweisverfahren, das auf einer enzymatischen Farbreaktion beruht. Dieses Nachweisprinzip ist gegenüber einer Bestimmung mittels HPLC deutlich preiswerter, jedoch auch ungenauer. Die Genauigkeit der ELISA-Tests ist jedoch für unsere Untersuchungen ausreichend. Ergebnisse ausgewählter Einzelproben werden zusätzlich mittels HPLC überprüft.

Mit einer GRINDOMIX Mühle der Fa. Retsch (GM200) werden die Getreideproben bei 10000 rpm für 25 sec vermahlen. Die Probenvorbereitung (Ausmahlgrad der Getreidekörner) konnte durch die Anschaffung und Nutzung einer Ultra-Zentrifugalmühle der Fa. Retsch entscheidend verbessert werden. 5 g der Probe werden für die Mykotoxinbestimmung eingesetzt. Die Aufarbeitung der Probe erfolgt danach entsprechend der Angaben des Herstellers. Die Nachweisgrenzen der Test-Kits lagen beim Test für Deoxynivalenol zwischen < 200 μ g/kg und 6.300 μ g/kg. Bei Zearalenon erfolgt die Auswertung im Bereich zwischen 41-400 μ g/kg. Bei Ochratoxin A werden Nachweisgrenzen zwischen 1-36 μ g/kg vom Hersteller angegeben.

Spektroskopische Methoden

Universität Potsdam, Institut für Chemie

Theoretische Grundlagen der Absorption und Fluoreszenzspektroskopie

Damit ein System Licht in Form von Photonen aufnehmen bzw. abgeben kann, muss ein Übergang zwischen einem elektronischen Grund- und einem elektronisch angeregten Zustand möglich sein. Für jeden dieser elektronischen Übergänge gilt die Resonanzbedingung (Gleichung 1), wobei h das Plancksche Wirkungsquantum, E_{Photon} die Energie und v_{Photon} die Frequenz des mit dem System wechselwirkenden Lichtquants ist. Dabei muss E_{Photon} gleich der Energiedifferenz der beiden beteiligten elektronischen Zustände (E_m und E_n) sein (Menzel 2001).

$$E_{Photon} = h v_{Photon} = \left| E_m - E_n \right| \tag{1}$$

Tritt Licht geeigneter Wellenlänge λ in eine Probe ein, so verringert sich dessen Intensität. Als Maß für diese Abnahme dient die Transmission (T), welche als Quotient der Intensitäten von transmittiertem Licht (I) und einfallendem Licht (I₀) definiert ist (Gleichung 2).

$$T = \frac{I}{I_0}$$
(2)

Aus Beobachtungen folgte, dass die Intensität des Lichts exponentiell mit dem in der Probe zurückgelegten Weg d abnimmt. Dabei besteht ein Zusammenhang zwischen der Konzentration c des absorbierenden Stoffes, der Länge d des Lichtweges durch den Stoff und der Intensität des einfallenden und des transmittierten Lichts (Gleichung 3).

$$I = I_0 \cdot 10^{-\varepsilon(\lambda) \cdot c \cdot d} \tag{3}$$

Wobei $\epsilon(\lambda)$ der molare dekadische Absorptionskoeffizient oder auch Extinktionskoeffizient ist. Er stellt eine stoffspezifische, wellenlängen-, temperatur- und lösungsmittelabhängige Größe dar. Mit der Definition der Extinktion E (auch Absorption oder optische Dichte) als dekadischer Logarithmus der reziproken Transmission (Gleichung.4),

$$E = \lg \frac{I_0}{I} \quad bzw. \quad E = -\lg T \tag{4}$$

folgt das Lambert Beersche Gesetz (Gleichung 5), welches einen direkten Zusammenhang zwischen der experimentell zugänglichen Extinktion und der Konzentration der absorbierenden Spezies darstellt.

$$E = \varepsilon(\lambda) \cdot c \cdot d \tag{5}$$

Somit ist es möglich, durch Messungen der Absorption bei bekanntem Extinktionskoeffizienten auf die Konzentration der untersuchten Spezies zu schließen (Atkins 2001).

Nach der Absorption von Licht befindet sich das bestrahlte Molekül in einem elektronisch angeregten Zustand. Um wieder in den thermodynamisch stabilen Grundzustand zu gelangen, muss das Molekül Energie abgeben. Das kann entweder auf photophysikalischem oder photochemischem Weg erfolgen. Die photophysikalischen Möglichkeiten der Deaktivierung lassen sich am einfachsten anhand eines in Abb. 8 dargestellten Jablonski-Schemas verdeutlichen.



Abb. 8: Vereinfachtes Jablonski-Diagramm:
 S – Singulett-Zustand, T – Triplett-Zustand, A – Absorption, F – Fluoreszenz
 P – Phosphoreszenz, IC - Innere Konversion, IR – Innere Relaxation, ISC - Interkombination

In diesem Schema finden sich zwei Arten von elektronischen Zuständen: Singulett-Zustände (S) und Triplett-Zustände (T). Diese Nomenklatur ergibt sich aus der Multiplizität (M) der Zustände.

$$M = 2S + 1 \tag{6}$$

$$S = \sum_{i=1}^{N} s_i \tag{7}$$

mit

Hierbei ist s_i der Spin s = $\pm 1/2$ des Elektrons i. S ist der Gesamtspin als Summe der Einzelspins s_i aller Elektronen N. Für Singulett-Zustände ist der Gesamtspin S = 0, für Triplett-Zustände entsprechend S = 1. Die Indizierung der Zustände mit 0, 1, 2, ergibt sich aus der energetischen Reihenfolge der Zustände. S₁ ist der erste angeregte, S₂ der zweite angeregte Singulett-Zustand und so weiter. Analoges gilt für die Triplett-Zustände. Die Deaktivierungsprozesse werden nach strahlenden und nichtstrahlenden Prozessen unterschieden. Nichtstrahlende Prozesse sind die Innere Umwandlung (*internal conversion, IC*) und die Interkombination (*intersystem crossing, ISC*). Bei der Inneren Umwandlung geht das in höhere Zustände angeregte Elektron isoenergetisch in einen hochschwingungsangeregten Zustand eines unteren Niveaus gleicher Multiplizität über, in dem es dann durch innere Relaxation in einen niedrigeren Schwingungszustand durch Wärmeabgabe gelangen kann. Über die Innere Umwandlung erreichen die Elektronen dann den tiefstliegenden Zustand gleicher Multiplizität (bei organischen Molekülen gewöhnlich der S₁; Regel von Kasha) (Kasha 1950). Interkombination liegt vor, wenn die Innere Konversion von Spin-Bahn-Kopplungen abhängig ist. Im Regelfall erfolgt der Übergang vom untersten angeregten Singulett-Zustand in den untersten Triplett-Zustand. Da für die Interkombination Spin-Bahn-Kopplungen von Bedeutung sind, nimmt die Wahrscheinlichkeit der Interkombination bei der Einführung von Schweratomen oder paramagnetischen Atomen in die untersuchten Moleküle zu. Aus den untersten angeregten Zuständen können die Elektronen dann strahlend durch Fluoreszenz (Singulett-Zustand) bzw. Phosphoreszenz (aus dem Triplett-Zustand) in den Grundzustand zurückkehren.

Die Absorption kann auch in einen höher angeregten Zustand S_n erfolgen, wenn das eingestrahlte Licht eine hohe Energie aufweist. Auch in diesem Fall muss die Resonanzbedingung erfüllt werden.

Theoretische Grundlagen der Zwei-Photonen-Absorption

Bei der Absorption eines Photons regt ein einzelnes Photon mit der Energie h_{v_1} ein Fluorophor an. Je nach Energie des Photons und dem entsprechenden Absorptionsspektrum wird dieses Fluorophor in höhere Schwingungszustände des S₁- oder z.B. bis in den S₂-Zustand angeregt (Abb. 9).



Abb. 9: Jablonski-Diagramm für Ein- (blau) bzw. Zweiphotonenanregung (rot) In Grün ist die Möglichkeit der strahlenden Desaktivierung durch Fluoreszenz gezeigt. Die durchgezogenen Pfeile zeigen die möglichen S₀-S₁- bzw. S₁-S₀-Übergänge. Die gepunkteten Pfeile zeigen die Möglichkeit der Anregung in höhere Schwingungsniveaus der angeregten Zustände (Lahn 2007).

Neben dieser Anregung gibt es auch die Möglichkeit, dass Fluorophore durch die Absorption mehrerer Photonen (Multi-Photonen-Absorption) angeregt werden können. Bei der Zweiphotonenabsorption werden zwei Photonen der doppelten Wellenlänge des Einphotonen-Absorptionsmaximums simultan absorbiert. Dadurch wird der Fluorophor mit deutlich energieärmerer Strahlung in einen angeregten Zustand versetzt. Für eine solche simultane Absorption benötigt man hohe Puls-Spitzen-Leistungen, um sicher zu stellen, dass genügend Photonen gleichzeitig zur Verfügung stehen (Lakowicz 2006). Deshalb werden häufig Titan-Saphir-Laser mit hohen Puls-Spitzen-Leistungen (Pulsbreite ≈ 100 fs, 80 MHz) als Anre-

gungsquelle verwendet. Die Wahrscheinlichkeit, dass zwei oder mehr Photonen zeitlich auf ein Molekül treffen, wird durch die hohe Anzahl an Photonen im fokussierten Femtosekundenpuls sehr groß. Fluoreszenz kann ausschließlich im Fokus des Laserstrahls entstehen, da sich nur in diesem Bereich genügend Photonen befinden. Ein Anregungswellenlängenbereich von 690-900 nm ist geeignet, da viele fluoreszierende Verbindungen in diesem spektralen Bereich eine hohe Wahrscheinlichkeit zur Zweiphotonenabsorption aufweisen.

Bei der Einphotonen-Anregung ist die Anzahl der absorbierten Photonen in jeder senkrecht zum Laserstrahl stehenden Ebene im Abstand *x* proportional zur Intensität des Anregungslichtes in dieser Ebene. Fokussiert man den Laserstrahl auf die Mitte der Probe, ändert man zwar die Form des Strahls und damit die Fläche des bestrahlten Teils der Ebene, aber nicht die Anzahl der Photonen, die die einzelnen Ebenen der Probe passieren. Die Anregungsintensität und damit die Emissionsintensität bleibt über alle Abstände *x* konstant.

Betrachtet man nun die Anregung derselben Probe durch einen Zweiphotonen-Prozess ist die Anzahl der absorbierten Photonen proportional zum Quadrat der Intensität des Anregungslichtes. Dieser Lichtstrahl wird nun durch Fokussierung verkleinert, aber seine Intensität wird im Fokus soweit erhöht, dass es zur Absorption kommt. Die Zahl der absorbierten Photonen ist nicht über *dx* konstant, sondern hat im Fokus ein Maximum (Abb. 10).





Die Auswahlregeln der Einphotonen-Anregung (Fröhlich 2006) gelten nicht für die Zweiphotonen-Anregung. Daraus ergeben sich Unterschiede in den jeweiligen Absorptionsspektren derselben Substanz. Es ist zu beachten, dass die y-Achse für die Zweiphotonen-Absorption logarithmisch und für die Einphotonenabsorption relativ aufgetragen ist. Um die Spektren auch besser vergleichen zu können, wird zusätzlich das Einphotonen-Absorptionsspektrum gegen die doppelte Wellenlänge aufgetragen und somit können beide Spektren auf dergleichen Wellenlängenskala betrachtet werden. Am Beispiel von der bekannten Fluoreszenzfarbstoffe Rhodamin B und Fluorescein wurde dies in der Literatur (Xu *et al.* 1996; Pawlicki *et al.* 2009) dargestellt. Eine für Absorptionsprozesse wichtige Stoffeigenschaft ist der wellenlängenabhängige Absorptionsquerschnitt σ . Im Falle der Einphotonen-Absorption entspricht dieser der Fläche, mit der ein einzelnes Molekül einfallendes Licht absorbieren kann. Die Anzahl der pro Sekunde absorbierten Photonen N_1 ist für die Einphotonen-Absorption durch

$$N_1 = \sigma_1 I \tag{8}$$

gegeben.

Dabei ist *I* die Intensität des einfallenden Lichtes mit der Einheit Photon/cm²s und σ_1 der Absorptionsquerschnitt. Da N_1 die Einheit Photon/s hat, ergibt sich somit für σ_1 die Einheit cm².

Bei der Zweiphotonen-Absorption gilt für die pro Sekunde absorbierten Photonen N_2 allerdings

$$N_2 = \sigma_2 I^2 \tag{9}$$

 σ_2 hat die Einheit cm⁴s/Photon, damit die Einheiten auf beiden Seiten der Gleichung übereinstimmen. Hier wurde die Einheit GM (benannt nach der Entwicklerin Maria Göppert-Mayer) eingeführt und entspricht 10⁻⁵⁰ cm⁴s/Photon. Weitere Informationen sind zu finden in (Göppert-Mayer 1931).

Theoretische Grundlagen der diffusen Reflektionsspektroskopie

Die Oberflächenbeschaffenheit einer Probe entscheidet, ob das eingestrahlte Licht diffus oder regulär gestreut wird. Ideal glatte Oberflächen reflektieren das Licht regulär, ideal matte dagegen diffus, dass heißt die gestreute Strahlung verlässt die Oberfläche in alle Raumrichtungen mit gleicher Intensität, die Winkelverteilung ist isotrop. Solche diffus reflektierenden Oberflächen erfüllen das Lambertsche Kosinusgesetz und werden als Lambertstrahler bezeichnet. Bei der regulären Reflektion, oft auch Spiegelreflektion genannt, wird der auftreffende Strahl mit dem Winkel α' , der gleich dem Einfallswinkel α ist, reflektiert. Wenn die Dimensionen der Teilchen der Probe dem Bereich der Wellenlänge des Lichtes entsprechen, wird nicht mehr von Reflektion gesprochen, sondern von Streuung (Teilchendurchmesser $\geq \lambda/10$). Die Vorgänge Brechung, Beugung und Reflektion sind hier nicht mehr voneinander zu unterscheiden. Die Winkelverteilung der Strahlungsintensität ist abhängig von der Form, Größe und Polarisierbarkeit der Teilchen und nicht mehr isotrop. Für die Charakterisierung solcher Systeme wird die Mie-Theorie verwendet.

Bei der diffusen Reflektionsspektroskopie wird mittels einer Integrationskugel (ugs. Ulbricht-Kugel) das in einer Probe diffus gestreute Licht analysiert. Dazu wird die Probe mit Licht bestrahlt. Der Detektor wird so platziert, dass kein direkt reflektiertes Licht gemessen wird (Abb. 11). Das eingestrahlte Licht wechselwirkt mit den Probenbestandteilen, wodurch Rückschlüsse auf dessen Zusammensetzung möglich sind (Kubelka & Munk 1931).



Abb. 11: Schematischer Aufbau der Integrationskugel (P – Probe, R – Referenz, D – Detektor)

Eine Möglichkeit der Auswertung dieser gemessenen Reflektionsspektren erfolgt durch die von Kubelka und Munk entwickelte 2-Fluss-Theorie. Ziel ist es, sowohl den Absorptions- als auch den Rückstreukoeffizienten einer bestrahlten Schicht zu bestimmen. Der Absorptionskoeffizient beschreibt dabei, wie viel des eingestrahlten Lichtes durch die Probe absorbiert wird. Der Streukoeffizient quantifiziert den Verlust an Strahlungsintensität, welcher durch Streuung hervorgerufen wird. Da streuende Transmission und Reflektion sich in der Praxis aus sehr komplexen Vorgängen zusammensetzen, werden von Anfang an folgende Vereinfachungen angenommen (Kortüm 1969a):

- Das Lambertsche Kosinusgesetz ist gültig.
- Die untersuchte Schicht besteht aus regellos verteilten Teilchen.
- Die Teilchen sind sehr viel kleiner als die Dicke der Schicht.
- Die Bestrahlung erfolgt diffus.

Eine Schicht der Dicke *d* werde diffus (und monochromatisch) mit der Strahlungsintensität *I* bestrahlt. Die Intensität der reflektierten Strahlung sei als *J* definiert. Randeffekte sind durch die große Probenausdehnung vernachlässigbar. Der einfallende Lichtstrahl wird um einen Betrag, welcher proportional zur Summe des Absorptionskoeffizienten *k* und des Rückstreukoeffizienten *s* und der Schichtdicke *dx* ist, geschwächt. Gleichzeitig wird das reflektierte Licht durch die gleichen Effekte geschwächt, zusätzlich stärkt dieses die einfallende Strahlung *I*. Es ergeben sich daraus viele Gleichungen, die letztendlich die Kubelka-Munk-Funktion ergeben (Storm & Springsteen):

$$\frac{K}{S} = \frac{\left(1 - R_{\infty}\right)^2}{2R_{\infty}} = F(R_{\infty})$$
(10)

21

F(R_∞) entspricht dem Quotienten von diffus reflektierter Strahlung J zur einfallenden Strahlungsintensität I. Gleichung 10 entspricht dem Lambert-Beerschen Gesetz bei Messung der Transmission statt der Reflektion. Beide Gleichungen gelten nur bei kleinen Absorptionsbzw. Extinktionswerten. Wird R_{∞} durch Absorptionsprozesse geschwächt, steigt $F(R_{\infty})$, analog der Extinktion bei Messung von Lösungen. Wird einer Matrix eine absorbierende Substanz zugesetzt, ändert sich der Rückstreukoeffizient zunächst nicht, weil S weiterhin durch das Streuvermögen des Verdünnungsmittels (der Matrix) bestimmt wird. Das Reflektionsvermögen wird dennoch sinken, weil es proportional zur Konzentration des Absorbers ist. Dies erklärt, warum Oberflächen Licht nicht zu 100% reflektieren können. Schon kleinste Verunreinigungen führen zur Abschwächung des eingestrahlten Lichtes. $F(R_{\infty})$ ist abhängig vom Absorptionskoeffizienten, dieser wird die diffuse Reflektion umso stärker schwächen, je größer er ist oder je höher die Konzentration des absorbierenden Analyten ist. Von daher sollte ein linearer Zusammenhang durch Auftragung von $F(R_{\infty})$ gegen die Konzentration zu beobachten sein. Durch eine Messung der Reflektion einer dünnen Schicht auf schwarzen Hintergrund R_D und einer Messung mit endlicher Schichtdicke lassen sich der Rückstreu- und Absorptionskoeffizient jeweils separat berechnen.

Der Rückstreukoeffizient ist abhängig von der Teilchengröße und -form, sowie von der eingestrahlten Wellenlänge (Fraser & Griffiths 1990).

Chemometrische Auswerteverfahren - Multivariate Datenanalyse

In den letzten Jahren sind in vielen Fällen abbildende optische Verfahren zur Qualitätskontrolle für die berührungslose Charakterisierung der Materialen und Endprodukte entwickelt worden (Beispiel Bildanalyse). Spektroskopische online Sensoren im Frequenzband des ultravioletten und sichtbaren Spektralbereichs (UV/VIS), des nahen, mittleren und fernen Infrarotbereichs (NIR und (mid)-IR) werden in der chemischen Industrie mehr und mehr bei flüssigen, homogenen Materialien verwendet. Bei der Untersuchung von Festkörpern und Festkörperoberflächen ist dies schwieriger. Dies liegt zum einen daran, dass die Inhomogenität des Festkörpers und seiner Oberfläche stark schwankt und zum anderen aufgrund der Oberflächenrauhigkeit unterschiedliche Anteile an diffuser und gerichteter Reflektion als überlagernde Informationen erhalten werden. Nachteil dieser Verfahren ist, dass viele überlagernde Informationen gleichzeitig erhalten werden.

Bei der Prozessüberwachung, der Qualitätssicherung, aber auch der Marktforschung, werden routinemäßig große Mengen an Daten erfasst, deren Informationsgehalt häufig nur zum Teil ausgewertet wird. Wichtige Informationen lassen sich oft aus der Kombination verschiedener Daten extrahieren. Allerdings stoßen dabei die traditionellen statistischen Auswertemethoden schnell an ihre Grenzen. Die *Hauptkomponentenanalyse (PCA)* und die *Partial Least Squares Regression (PLS)* sind sicher die am häufigsten verwendeten Verfahren der multivariaten Datenanalyse zum Auffinden und Herausarbeiten von Informationen aus großen Datensätzen. Bei beiden Verfahren erfolgt die Faktorenzerlegung nach rein mathematischen Gesichtspunkten, weshalb die Faktoren häufig nur schwer mit echten physikalischen Größen zu verknüpfen und zu deuten sind.

Um die Interpretierbarkeit zu erhöhen, wurden die klassischen multivariaten Verfahren in letzter Zeit durch Rotationsverfahren, sog. selbst modellierende Kurvenauflösungsverfahren *(Self-Modelling Curve Resolution)*, wie z.B. der *Multivariate Curve Resolution (MCR)* erwei-

tert. Dies bietet dem Anwender vor allem in der Spektroskopie große Vorteile, denn bei der *MCR* erfolgt die Zerlegung in chemisch interpretierbare Basisspektren, die die Grundkomponenten der vorhandenen Mischungsspektren wiedergeben. Sogenannte Scorewerte zeigen dann z.B. die Zu- oder Abnahme einer bestimmten Komponente innerhalb der Datenmatrix an (Danzer 2001; Kessler 2007; Otto 2007).

Hauptkomponentenanalyse (PCA)

Die Hauptkomponentenanalyse ist ein statistisches Verfahren, das angewandt wird, wenn eine große Zahl von Eigenschaften, die an vielen Objekten gemessen wurden, auf wenige gemeinsame aber unabhängige Einflussgrößen reduziert werden sollen. Man hat mit dieser Methode die Möglichkeit einen n-dimensionalen Raum auf einen m-dimensionalen Raum zu reduzieren, wobei m < n ist. Das Besondere dabei ist, dass die wesentliche Information, die in den Daten enthalten ist, bewahrt bleibt und in den meisten Fällen sogar deutlicher dargestellt wird. Die Methode fasst dazu Variablen, die stark untereinander korreliert sind, zusammen (ähnlicher Informationsgehalt).

Außerdem geht die Hauptkomponentenanalyse von der Annahme aus, dass es bei stark korrelierten Größen eine dritte Größe gibt, die nicht direkt messbar ist und die hinter diesen korrelierten Variablen steht. Das bedeutet, die messbaren Größen sind nur eine andere Erscheinungsform von Größen, die im Hintergrund stehen und nicht direkt gemessen werden können. Man nennt diese im Hintergrund stehenden Größen Hauptkomponenten (Principal Components) oder Faktoren. Ziel der Hauptkomponentenanalyse ist es, solche Hintergrund-größen bzw. Faktoren aus den gemessenen Variablen zu ermitteln, die die beobachteten Zusammenhänge möglichst vollständig erklären.

Die Datensätze der multivariaten Analyse sind mehrdimensionale Datensätze, in der Regel handelt es sich um zweidimensionale Matrizen. In der mathematischen Formulierung der Hauptkomponentenanalyse wird der zu untersuchende Datensatz X als das Produkt einer möglichst kleinen Anzahl von Hauptkomponenten P und Gewichtsvektoren T dargestellt. Man beschreibt also folgende Zerlegung (Abb. 12):



Abb. 12: Formulierung der Hauptkomponentenanalyse

X = Datenmatrix (Objekte stehen in Zeilen, Variablen in Spalten)

- P = Faktorenmatrix
- T = Gewichtsmatrix (Scorematrix)
- E = Residuenmatrix

In den Zeilen der Matrix P stehen die Hauptkomponenten, die für alle Objekte der Datenmatrix X gleich sind und in der T Matrix stehen die Gewichtsvektoren für jedes einzelne Objekt. Die Matrix P hat genauso viele Spalten, wie die Matrix X (= Anzahl der Variablen). Die Matrix T hat genauso viele Zeilen wie die Matrix X (= Anzahl der Objekte) und genauso viele Spalten wie die Matrix P Zeilen hat (= Anzahl der Faktoren).

Die Matrix E ist die Residuenmatrix und ergibt sich aus D - PT. Je besser die Faktoren- und die Scorematrix die Daten beschreiben, umso kleiner wird die Residuenmatrix. Man kann die Ziele der Hauptkomponentenanalyse auch folgendermaßen zusammenfassen (Abb. 13).



Abb. 13: Ziele der Hauptkomponentenanalyse

Bei der Datenreduktion und der Vereinfachung will man für die große Datenmenge ein kleineres überschaubares Modell entwickeln, das die Daten beschreibt. Mit diesen Modellen lassen sich dann auch unbekannte Objekte beschreiben, wenn für diese die gleichen Messungen vorgenommen werden.

Bei der Klassifizierung will man Klassen für ähnliche Objekte finden. Man kann aus unbekannten Daten die Klassen herausfinden, oder für bekannte Daten Klassenmodelle erstellen und mit diesen dann unbekannte Objekte einordnen. Dieses Verfahren ist unter dem Begriff SIMCA bekannt. Damit können auch Ausreißer erkannt werden, da sie zu keiner bekannten Klasse gehören. Außerdem kann mit Hilfe der *PCA* die Korrelation zwischen den Variablen herausgefunden werden und zusätzlich die Wichtigkeit der Variablen für das verwendete Modell. Damit können die Variablen herausgefunden werden, die für die gegebene Anwendung von besonderer Wichtigkeit sind.

Eine weitere wichtige Anwendung ist die Vorhersage bestimmter Zielgrößen aus den gemessenen Eigenschaften. Die Hauptkomponentenanalyse geht hier in die Regression über. In der Regel wird dies mit dem Verfahren der *Partial Least Squares Regression (PLS)* durchgeführt.

Partial Least Squares Regression (PLS)

Die *Partial Least Square Regression* hat in den letzten Jahren sehr stark an Bedeutung gewonnen und ist zum fast ausschließlich verwendeten Regressionsalgorithmus für die multivariate Regression in der Chemie geworden. Vor allem in der Spektroskopie wird die *PLS* zur Kalibrierung von Eigenschaften aus Spektren verwendet.

Die Methode der *PLS* berechnet eine Regression von vielen unabhängigen x-Variablen auf eine oder mehrere y-Variablen. Der Unterschied zur Multilinearen Regression ist der, dass die x-Variablen hoch korreliert und interkorreliert sein dürfen, dass es viel mehr x-Variable als Objekte geben darf und trotzdem die Regression gerechnet werden kann.

Auch bei der *PLS* Regression werden die X-Daten in die Matrizen T und P zerlegt, wie bei der *PCA*. Allerdings wird bei der Zerlegung in die Hauptkomponenten für die X-Daten die Zielgröße y schon mit einbezogen (Abb. 14).



Abb. 14: Partial Least Square Regression

Man hat auf der einen Seite die Datenmatrix X, die mit Hilfe der *PCA* in die beiden Matrizen P (Faktormatrix) und T (Scorematrix) zerlegt wird:

$$X = TP^{T}$$
(11)

Auf der anderen Seite hat man die Zielgrößenmatrix Y, die auch nur aus einem einzigen Vektor bestehen kann. Hat diese Y-Matrix mehr als einen Vektor, so macht man auch hier eine PCA und erhält die Faktormatrix Q mit der zugehörigen Scorematrix U:

$$Y = UQ^{T}$$
(12)

Bei der *PLS* werden nun diese beiden Datenräume X und Y miteinander verbunden und zwar durch die Scorevektoren s und u. Für die Berechnung des ersten Faktors P1 im X-Datenraum wird der Y-Vektor mit der größten Varianz gewählt und für t1 eingesetzt. Mit diesem Anfangswert für t1 wird die erste Schätzung für den Faktor P1 berechnet. Nach einigen Normierungen wird dann aus dem Faktor P1 wieder der zugehörige Scorevektor t1 berech-

net und dieser wird nun als Ausgangswert für die Berechnung der *PCA* auf der Y-Seite genommen. Auf diese Art und Weise spielt der Algorithmus für die *PLS* die neu berechneten Scorevektoren immer wieder von der X-Seite auf die Y-Seite und berechnet damit Hauptkomponenten für die X-Daten, bei denen die Struktur der Y-Daten berücksichtigt ist. Mit Hilfe des berechneten *PLS*-Kalibriermodells kann dann aus den gemessenen X-Werten die Zielgröße Y für unbekannte Objekte bestimmt werden.

Multivariate Curve Resolution (MCR)

Die Hauptkomponentenanalyse bestimmt die Faktoren nach rein mathematischen Gesichtspunkten, wobei der erste Faktor immer in die Richtung der maximalen Varianz in den Daten zeigt. Der zweite Faktor muss darauf senkrecht stehen und die nächst größere Varianz erklären. Dies hat den Vorteil, dass man ein orthogonales Koordinatensystem erhält, in dem die Objekte beschrieben werden, aber sehr häufig geht die Anschaulichkeit für die Faktoren dabei verloren. Vor allem wenn es sich um Spektren handelt, hat die Zerlegung in mathematisch orthogonale Faktoren große Nachteile. Besser wäre eine Zerlegung in Basisspektren, die die Grundkomponenten der vorhandenen Mischungsspektren wiedergeben. Dies ermöglicht die Technik der sogenannten *Curve Resolution*. Ausgehend von der orthogonalen Zerlegung der Datenmatrix D in die Scorematrix T und die Hauptkomponentenmatrix P wird eine Rotationsmatrix R gesucht.

Damit man eindeutige Lösungen erhält, müssen bestimmte Nebenbedingungen eingehalten werden.

$$D = TRR^{-1}P^T + E = CS^T + E$$
(13)

$$C = TR \tag{14}$$

$$S = R^{-1}P^T \tag{15}$$

Diese Gleichungen sind eindeutig lösbar unter bestimmten Nebenbedingungen. Für Spektren werden in der Regel positive Absorptionswerte und positive Konzentrationswerte als Nebenbedingungen verlangt. Mit den rotierten Hauptkomponenten, die nun interpretierbare Spektren sind, werden die Scorewerte für jedes Objekt neu berechnet, wobei auch hier in der Regel die Nebenbedingung für positive Konzentrationen verlangt wird. Das Resultat der *Curve Resolution* ist ebenfalls eine Zerlegung der Datenmatrix in eine Score- und eine Faktorenmatrix, wobei in der Faktorenmatrix nun aber reine Spektren stehen und die Scorewerte z.B. die Zu- oder Abnahme einer bestimmten Komponente aus der Datenmatrix X darstellen. Mit Hilfe dieser Technik können Reaktionen verfolgt werden und die Änderung einzelner Komponenten über die Zeit wiedergegeben werden (Abb. 15).



Abb. 15: Formulierung der Multivariate Curve Resolution (MCR)

Der große Vorteil der Methode liegt darin, dass a priori keine Information über die Spektren der reinen Komponenten vorliegen muss. Die Spektren der reinen Komponenten werden aus den Mischungen berechnet.

Spektroskopische Eigenschaften der Mykotoxine

Aufgrund unvollständiger Angaben in der Literatur (Sydenham *et al.* 1996) wurden grundlegende photo-physikalische Parameter zur Absorption bzw. Fluoreszenz der Aflatoxine, Ochratoxine, Fumonisin B₁, Patulin, Zearalenon, Deoxynivalenol sowie T-2 und HT-2 Toxin (Abb. 16) in verschiedenen Lösungsmitteln (Ethanol, Acetonitril, Wasser) bestimmt.



Abb. 16: Chemische Strukturen einiger ausgewählter Mykotoxine

Einige der für Europa relevanten, untersuchten Mykotoxine absorbieren im Spektralbereich von 200 nm < λ_{abs} < 400 nm (Tab. 8) und zeigen eine intrinsische Lumineszenz bei Emissionswellenlängen λ_{em} > 350 nm (Abb. 17).

)	$\lambda_{abs,max}$ / nm (ϵ / l*mol ⁻¹ *cm ⁻¹)		
Mykotoxine	Acetonitril	Ethanol	Wasser	
Ochratoxin A*	390 (9700)	220 (29600)	333 (3200)	
		330 (7500)	380 (3000)	
Aflatoxin B ₁ *	224 (28300)	224 (24500)	224 (22400)	
	265 (14400)	264 (15400)	267 (14300)	
	356 (24000)	360 (26500)	365 (24300)	
Fumonisin B_1	225 (~1200)	230 (~200)	228 (~3300)	
Patulin	273 (29600)	275 (14900)	279 (1200)	
Zearalenon	236 (27400)	237 (31500)	236 (75800)	
	273 (11600)	275 (15200)	271 (34100)	
	315 (5300)	315 (7700)	311 (13900)	
Deoxynivalenol	218 (8000)	218 (7000)	215 (7500)	
HT-2 Toxin	275 (~400)	270 (~200)	272 (~200)	
T-2 Toxin	275 (~300)	273 (~200)	275 (~200)	

Tab. 8: Absorptionsmaxima ($\lambda_{abs,max}$) und Extinktionskoeffizienten (ϵ) der Mykotoxine in verschiedenen Lösungsmitteln (Steinbrück *et al.* 2008)

* abhängig vom Lösungsmittel und pH-Wert



Abb. 17: Anregungs- und Emissionsspektren der untersuchten Mykotoxine in ethanolischer Lösung

Die Emissionsmaxima von Aflatoxin B₁, Ochratoxin A (OTA), Zearalenon und Patulin liegen in ethanolischer Lösung zwischen 420 nm < λ_{em} < 470 nm. Die Maxima in einer Acetonitrilbzw. wässrigen Lösung sind unverändert oder nur wenig bathochrom verschoben. Patulin fluoresziert in wässriger Lösung und Acetonitril nicht. Die Fluoreszenzeffizienzen liegen zwischen 3% und 45% und die entsprechenden Fluoreszenz-Lebenszeiten im ns-Bereich. Fumonisin B₁, HT-2 sowie T-2 Toxin absorbieren im untersuchten Spektralbereich nur schwach und fluoreszieren unter den gewählten experimentellen Bedingungen nicht (Rasch *et al.* 2008).

Sonderfall: Ochratoxine

Oftmals beinhalten Mykotoxine heteroatomhaltige Gruppen (z.B. OH-Gruppen), die die Photophysik der Verbindung nachhaltig prägen können. So besitzt z.B. OTA am Isocoumarinring eine Hydroxylgruppe, deren Acidität sich für OTA im elektronisch angeregten Zustand um ca. 7 Größenordnungen verstärkt (Stichwort "Protonentransfer in elektronisch angeregtem Zustand"). Das hat zur Folge, dass in Lösung in den Absorptions- und Fluoreszenzspektren zwei OTA-Spezies zu beobachten sind.

OTA (Abb. 18) ist zusammengesetzt aus einer Isocoumarin- und Phenylalanin-Einheit. Struktur A und B zeigen eine Absorption bei λ_{abs} = 333 nm. In ethanolischer Lösung ist die Phenolgruppe der Isocoumarineinheit durch Keto-Enol-Tautomerie stabilisiert (Struktur B), nur die carboxylische Gruppe der Phenylalanin-Einheit wird deprotoniert.



Abb. 18: Deprotonierung von Ochratoxin A (X = CI) und B (X = H)

Es bildet sich das Monoanion. Unter Zugabe von Base oder nach dem Lösen in aprotischen Lösungsmitteln (z.B. DMF) bildet sich das Dianion (Struktur C) und das Absorptions-Maximum ist bathochrom verschoben auf λ = 380 nm (Abb. 19, links), während das Fluoreszenzmaximum von λ_{em} = 455 nm zu λ_{em} = 427 nm hypsochrom verschoben ist (Abb. 19, rechts) (Chu, 1974, Il'ichev *et al.* 2001).



Abb. 19: links: Fluoreszenzanregungspektren von Ochratoxin A in Ethanol (grün), DMF (blau), Wasser (gelb) und Wasser pH < 4 (schwarz) rechts: Fluoreszenzemissionsspektren von Ochratoxin A in Wasser mit unterschiedlichen pH-Werten

Die in der Literatur beobachtete Ringöffnung und der damit verbundene Shift auf 345 nm wurden unter den experimentellen Bedingungen nicht beobachtet (Xiao *et al.* 1996) Die photophysikalischen Eigenschaften von OTA wurden im Verlauf des Projektes ausführlich untersucht und sind in (Steinbrück 2008; Steinbrück *et al.* 2008) ausführlich beschrieben.

Die Untersuchungen der regulären Fluoreszenzspektren der verschiedenen Mykotoxine wurden hinsichtlich geeigneter Wellenlängenbereiche bzw. Wellenlängenpaare (λ_{ex} , λ_{em}) gemeinsam mit der Optimare Analytik GmbH & Co. KG GmbH für in-situ bzw. in-line Anwendungen analysiert. Dabei wurden die experimentellen Untersuchungen z.B. durch Simulationsrechnungen flankiert.

Untersuchung der Zwei-Photonen-Absorption von Aflatoxinen und Ochratoxinen

Die Photonen sind im Vergleich zur regulären Ein-Photonen-Absorption von doppelter Wellenlänge ("zwei rote Photonen" statt "eines blauen Photons"). Dadurch gelingt es, experimentell Störungen durch Matrixlumineszenz zu minimieren bzw. in optisch dichten Proben eine höhere Eindringtiefe zu erreichen (Pawlicki *et al.* 2009). Dies ist besonders für wie im Rahmen des Forschungsvorhabens untersuchte Proben von großer Bedeutung, denn die Limitierung durch die intrinsischen optischen Eigenschaften der Matrix schränken eine breite Anwendung von einzig auf regulären Fluoreszenzmessungen basierende in-situ-Detektion von Mykotoxinen in Getreide und Getreideprodukten merklich ein.

Zum Nachweis der Zwei-Photonen-Absorption wurden leistungsabhängige Fluoreszenz-Intensitätsmessungen an Aflatoxin B₁ und Ochratoxin A in verschiedenen Lösungsmitteln und mit unterschiedlichen pH-Werten durchgeführt. Zusätzlich wurde Fluorescein als positiver und Wasser als negativer Standard für Zwei-Photonen-induzierte Fluoreszenz vermessen.

Mit einer Anregungswellenlänge im Spektralbereich von 700 nm < λ_{ex} < 860 nm (Titan-Saphir-Laser), einem Emissionsmessbereich von 350 nm < λ_{em} < 650 nm wurden die quantenkorrigierten Emissionsspektren bzw. die entsprechenden Flächenintegrale der Fluoreszenzspektren bestimmt. Die Leistung des Lasers *P* wurde mit Hilfe eines Grauradfilters stu-

fenweise verändert und mit einem Leistungsmessgerät quantifiziert. Zu jeder eingestellten Laserleistung wurde ein Emissionsspektrum gemessen und das Integral bestimmt, da die Leistung *P* mit der Intensität (Flächenintegral) *I* nach folgender Gleichung zusammenhängt:

$$I \sim P^2 \tag{16}$$

$$\log I \sim 2 \log P \tag{17}$$

Um den Absorptionsquerschnitt σ_2 berechnen zu können, muss die Quantenausbeute der Mykotoxine im jeweiligen Lösungsmittel bekannt sein.

$$\sigma_2 = \sigma_2^{FL} \frac{\int F^{FL} dv \cdot c \cdot \phi}{\int F dv * c^{FL} \cdot \phi^{FL}}$$
(18)

Hierbei sind ϕ die Quantenausbeute, c die Konzentrationen und F das Integral der Flächen unter den Emissionskurven. Bei FL handelt es sich um den Standard Fluorescein.

Diese Untersuchungsmethode wurde für Aflatoxin B_1 in Wasser, Ethanol und einer Modell-Lösung (12% ethanolische Lösung, pH = 4) und Ochratoxin A in Ethanol, DMF und Wasser (pH = 4 und 12) angewandt. Die 12% ige ethanolische Lösung mit pH = 4 wurde als Phantom für die hochwertig veredelten Getreide- und Traubenprodukte Bier bzw. Wein als proof-ofprinciple für einen probenahmefreien Nachweis der Mykotoxine eingesetzt.

Für Ochratoxin A in Lösung erweist sich ein auf Zwei-Photonen-Induzierter-Fluoreszenz basierende Nachweis als schwieriger im Vergleich zu Aflatoxin B₁, da OTA bei pH = 4 als Monoanion (Absorptionsmaximum λ = 330 nm) vorliegt und apparativ bedingt nur eine minimale Anregungswellenlänge von 720 nm (entsprechend eine Ein-Photon-Absorption bei 360 nm) möglich ist (Abb. 20). Somit konnten nur sehr ungünstige Anregungsbedingungen realisiert werden.



Abb. 20: Fluoreszenzspektrum von Bier gespikt mit OTA und AFB₁ nach Zwei-Photonen-Anregung, $_{e}\lambda_{x}$ = 720 nm

Für Aflatoxin B₁ konnte das gesamte Zwei-Photonen-Anregungsspektrum bestimmt (Abb. 21) und eine Nachweisgrenze in den o.g. alkoholischen Getränken bestimmt werden (Rasch *et al.* 2010). Das konnte ebenso für AFB₁ in wässriger Lösung sowie für OTA in ethanolischer Lösung und in DMF bestimmt werden.



Abb. 21: Vergleich der Ein-Photonen- (Linie) und Zwei-Photonen- (Punkte) Fluoreszenz-Anregungsspektren von Aflatoxin B1

Auf der y-Achse ist der Zwei-Photonen-Absorptionsquerschnitt aufgetragen. Für die Darstellung des Ein-Photonen-Absorptionsspektrums sind die entsprechenden Absorptionswellenlängen als $2^*\lambda$ zum besseren Vergleich dargestellt.

Für die Ein- und Zwei-Photonen-induzierte Fluoreszenz (2PIF) wurden die Nachweisgrenzen (LOD) für die verschiedenen Mykotoxine bestimmt. Es zeigte sich in (Rasch *et al.* 2010), dass die LODs für die 2PIF kleiner sind, da die Hintergrundfluoreszenz der Matrix geringer ist.

2PIF-basierte Nachweisverfahren sind derzeit für in-situ-Anwendungen wohl nur im Bereich der hochveredelten Produkte (z.B. Bier oder Wein) denkbar. Allerdings steht zu erwarten, dass durch die rasanten Entwicklungen im Bereich der Photonik leistungsstarke Femtosekunden-Lasersysteme zu konkurrenzfähigen Preisen zur Verfügung stehen könnten, wodurch dann eine entsprechende Methode für die mobile Analytik interessant wird.

Es ist bekannt, dass die LOD für einen fluoreszenzbasierten Nachweis verschiedener Mykotoxine verkleinert werden können, indem zu einer wässrigen Lösung des Mykotoxins (z.B. OTA, AFB1, ZEA) Cyclodextrine gegeben werden. Es bilden sich Einschlussverbindungen, wodurch eine Erhöhung der Fluoreszenz der Probe zu beobachten ist, z.T. um das 25fache. Es besteht ferner die Möglichkeit, dass Fluoreszenzquencher, z.B. Weininhaltsstoffe, so "unschädlich" gemacht werden und durch eine Addition von Cyclodextrinen eine direkte Analyse ohne Separationsschritt möglich ist (Hashemi & Alizadeh 2009; Maragos *et al.* 2008; Veronne *et al.* 2007; Ramirez-Galicia *et al.* 2007; Dall'Asta *et al.* 2003). Ob es für jedes Mykotoxin ein selektives Cyclodextrin gibt, wird momentan geprüft, ebenso wie eine 2PIF-Detektion in diesen. Besonders für die direkte Detektion von Mykotoxinen in alkoholischen Getränken könnte diese Methodik in Kombination mit 2-PIF zukünftig von Interesse sein.

Matrix "Getreide"

Optische Spektroskopie in einer Matrix wie Getreide ist extrem schwierig, da es eine große natürliche Variationsbreite der Körner hinsichtlich Größe, Form, Oberflächenbeschaffenheit und Färbung gibt. Darüber hinaus können noch in Abhängigkeit von den Witterungs- bzw. Lagerungsbedingungen zentrale Größen wie der Feuchtigkeitsgehalt stark variieren. Es ist daher sehr wichtig, die experimentellen Messbedingungen an die anspruchsvolle Matrix "Getreide" anzupassen. Dies kann in ersten Schritten durch Referenzproben geschehen. Als Referenzprobenmaterial können z.B. lagerfähige Roggen- und Weizenkörner oder befeuchtete Proben mit definiertem Feuchtegehalt herangezogen werden, die mittels Fluoreszenz- und/oder Reflektionsspektroskopie untersucht werden. Aus diesen wird dann eine Referenzspektren-Datenbank erstellt – wie im Forschungsvorhaben ansatzweise geschehen.

Es kann eine phänomenologische Zuordnung der spektralen Daten zu den verschiedenen Kornbestandteilen durch eine Zerlegung von Getreidekörnern in ihre Hauptbestandteile – Frucht- und Samenschale, Keimling und Mehlkörper – gemacht werden. Im Falle von fluoreszenzbasierten Techniken ist die Wahl der Anregungswellenlänge ein zentraler Selektionsparameter. Bei Anregungswellenlängen $\lambda_{ex} < 320$ nm überlappen die schwache Emissionsbande von Tryptophan ($\lambda_{em,max} = 320$ nm) und die intensivere von Riboflavin ($\lambda_{em,max} = 425$ nm) stark mit der Fluoreszenz verschiedener Mykotoxine (Abb. 22).



Abb. 22: Reflektionsspektrum (blau) von mit OTA kontaminiertem Weizenmehl und Fluoreszenzemission (grün) von unkontaminiertem Weizenmehl

Die Unterscheidung von Mykotoxin- und intrinsischer Matrixfluoreszenz ist daher problematisch. In Einzelfällen - bedingt durch die spezifischen Eigenschaften des jeweiligen Mykotoxins - können die experimentellen Parameter allerdings selektiv so gewählt werden, dass eine qualitative und quantitative fluoreszenzbasierte online Fluoreszenzanalytik möglich ist. In Abb. 23 sind auf der linken Seite die Emissionsspektren von mit OTA kontaminierten Weizenkörnern bei einer Anregung $\lambda_{ex} = 250$ nm abgebildet.



Abb. 23: Emissionsspektren von kontaminiertem Weizen rechts: nach Anregung von λ_{ex} = 250 nm, links: nach Anregung von λ_{ex} = 320 nm

Die Körner wurden mit Lösungen unterschiedlicher OTA-Konzentrationen in Kontakt gebracht und vermessen. Die Emissionsmaxima von Riboflavin und Tryptophan treten wieder deutlich hervor. Verschiebt man jedoch die Anregung zu λ_{ex} = 320 nm und detektiert die Fluoreszenz λ_{em} > 350 nm, so kann selektiv OTA bzw. die Kontamination der Getreidekörner mit OTA qualitativ nachgewiesen werden. Es ist anzunehmen, dass ein Teil des Mykotoxins in das Korn bzw. die äußeren Schichten "diffundiert" und damit der quantitative Nachweis an der Oberfläche limitiert ist.

Reflektionsspektroskopie an sterilen Getreideproben zur Feuchtigkeitsbestimmung

Aus den Reflektionsspektren gemessen für den UV/Vis- bis NIR-Bereich werden Informationen zu den Bestandteilen (Stärke, Fett, Protein, Vitamine), dem Wassergehalt und eben auch der An- oder Abwesenheit von Schimmelpilzen auf der Probe erhalten.

Das Reflektionsspektrum einer befeuchteten, sterilen Weizenprobe mit 25% Feuchte (bzw. dessen 2. Ableitung, (Abb. 24) wird dominiert durch die charakteristischen Oberton-Schwingungen des Wassers um 980 nm und 1410 nm und einer Kombinationsschwingung um 1910 nm. Schwingungen, die Stärke, Proteinen und Ölen zugeordnet werden, können um 1200 nm, 1380 nm und 1760 nm beobachtet werden. Bedingt durch Variationen in Form, Größe, Farbe, Dichte, Zusammensetzung und Feuchtigkeitsgehalt werden in den Reflektionsspektren von Getreidekörnern Bandenvariationen von bis zu 30 nm (Wang *et al.* 1999) gefunden.



Abb. 24: links: Reflektionsspektrum einer befeuchteten, sterilen Weizenprobe mit 25% Feuchte rechts: die zweite Ableitung der logarithmischen Auftragung von 1/R (W - Wasser, P/S - Proteine, Stärke, Öle)

Proben, die in diffuser Reflektion gemessen werden, zeigen häufig spektrale Unterschiede, die, wie oben bereits beschrieben, von den physikalischen Eigenschaften der Körner herrühren. Dies hat zur Folge, dass die chemischen Informationen oftmals davon überdeckt werden. Um diese Effekte zu eliminieren, werden Korrekturmethoden, z. B. die *Multiplicative Signal Correction (MSC)* oder *Extended Multiplicative Signal Correction (EMSC)*, bei der Datenbearbeitung eingesetzt.

In Abb. 25 sind exemplarisch vier Reflektionsspektren von Weizenkörnern mit definierter Gutfeuchte gezeigt und der Wellenlängenbereich gewählt, in dem die Schwingungsbanden des Wassers zu finden sind. Die Einzelspektren setzen sich aus Mittelwertspektren von je fünf Teilproben zusammen. Diese Messungen wurden noch viermal mit jeweils neu angesetzten Proben wiederholt.



Abb. 25: Reflektionsspektren von Weizenkörnern mit unterschiedlichen Feuchtegehalten

Neun aufgenommene Spektren je Feuchtegehalt wurden mittels Software *Unscrambler 9.8* (Fa. Camo, Norwegen) bearbeitet. Mit diesen normierten Spektren wird eine *PCA* (anhand ausgewählter Wellenlängenbereiche) durchgeführt, anhand derer die Gruppenbildung in den ersten beiden Hauptkomponenten dargestellt ist (Abb. 26). Die Summe der Scoreplots der PC1 und PC2 ergeben 100%.



Abb. 26: Reflektionsspektren von Weizenkörnern - Scoreplot der PCA Erklärungsanteil: PC1 93%, PC2 7%

Nach dieser Vorverarbeitung sind Gruppen zu unterscheiden, allerdings ist die Gesamtheit der Proben 11, 15, 18 und 28 nicht eindeutig auf der ersten Hauptkomponente, sondern erst auf der zweiten zu unterscheiden, weshalb eine andere Datenvorbehandlung getestet werden sollte, auch mit dem Hintergrund, dass weitere Gutfeuchten in die Auswertung mit einbezogen werden müssen.

Spektroskopie an mit Schimmelpilzen kontaminierten Getreideproben

Abb. 27 zeigt ein Reflektionsspektrum von sterilen unbefallenen Weizenkörnern sowie drei Spektren von Weizenkörnern, jeweils künstlich mit den Schimmelpilzen *Fusarium graminearum, Aspergillus niger* und *Penicillium verrucosum* inokuliert.

Aufgrund der relativ ähnlichen Reflektionsspektren der inokulierten Körner müssen chemometrische Auswerteverfahren herangezogen werden, um weitere Informationen zur Unterscheidung aus dem Spektrum abzuleiten.



Abb. 27: Reflektionsspektren von sterilen, unkontaminierten Weizenkörnern und künstlich mit Schimmelpilzen inokulierten Weizenproben gleicher Feuchte (25%)
Bei der Anwendung einer *PCA* der verschiedenen Proben (Abb. 28) wird deutlich aufgezeigt, dass sich die Reflektionsspektren zwar auf der ersten Hauptkomponente trennen lassen, aber eine bessere Trennung erst mit weiteren vollzogen werden kann.



Abb. 28: Reflektionsspektren von unkontaminierten Weizenkörnern und künstlich mit Schimmelpilzen inokulierten Weizenproben gleicher Feuchte (25%) - Scoreplot der PCA, Erklärungsanteil: PC1 91%, PC2 7%

Außerdem ist keine allzu deutliche Abtrennung zwischen dem Lagerpilz Aspergillus und dem Feldpilz Fusarium zu sehen. Dafür lassen sich die unkontaminierten Proben und die mit *Penicillium* genauer abgrenzen. Genauso müssen die Datenvorbehandlungen weiter spezifiziert werden und mehr Datensätze von Proben ermittelt und in die Betrachtung einbezogen werden. Wie bereits oben erwähnt, unterscheiden sich die Körner in ihrer Größe, haben aber denselben Feuchtigkeitsgehalt (25%). Einzig das Reflektionsspektrum von *Penicillium verrucosum* kann deutlich von dem unbefallenen Kornspektrum und den anderen Gattungen unterschieden werden und mittels Abgleichen mit einer angelegten Spektrendatenbank der Reinkulturen (Abb. 29) können Rückschlüsse auf die Gattung und Art gezogen werden. Die Ergebnisse von *Aspergillus niger* und *Fusarium graminearum* liegen nah beieinander und müssten einzeln betrachtet besser abzugrenzen sein.



Abb. 29: Reflektionsspektren der Reinkulturen: *Penicillium verrucosum* (blau), *Penicillium chrysogenum* (rot), *Aspergillus niger* (pink), *Aspergillus versicolor* (grün), *Fusarium poae* (lila), *Fusarium graminearum* (schwarz) und *Fusarium culmorum* (gelb)

Anhand einer Spektrendatenbank von Reinsubstanzen müssen die in der Literatur (Kessler 2007) beschriebenen Methoden der *Multivariate Curve Resolution* bzw. weitere o.g. statistische Auswertungen Anwendung finden.

Kombination von Reflexions- und Emissionsspektroskopie

Bei der Fluoreszenzspektroskopie bieten sich diese Auswertungsmethoden bzw. auch die Faktoranalyse an, da die Reinspektren der Schimmelpilze auf Agar (PDA und MEA+CI) und kontaminierte Getreideproben vermessen wurden. Ein dabei auftretendes Problem war die "Eigenfluoreszenz" des Agar (Abb. 30).

Durch die gezeigte Überlagerung der Spektren, ist es nicht zweifelsfrei möglich, die Fluoreszenzeigenschaften der Schimmelpilze zu bestimmen. Daher werden in aktuellen Arbeiten die Schimmelpilze vom Agar abgenommen (vortexen) und in Lösung am konventionellen Fluoreszenzspektrometer oder eingedampft mittels Konfokalmikroskopie (mit Fluoreszenzanregung) untersucht. So sollte die störende Matrixlumineszenz minimiert werden und ein eindeutiger Nachweis der Schimmelpilze gelingen.



Abb. 30: Fluoreszenzemissionsspektren von PDA (blau) und *Fusarium graminearum* auf PDA (grün) bei einer Anregung λ_{ex} = 250 nm

Als Ergebnis kann bereits aufgeführt werden, dass unter den momentanen experimentellen Bedingungen keine Schimmelpilze auf Getreide unter der kritischen Keimzahl nachgewiesen werden können, da einerseits die Fluoreszenzemission der Körner die der Pilze überlagert (Abb. 31) und andererseits vom ATB beimpfte Proben schon sichtbaren Pilzbefall aufwiesen, bevor dieser detektiert werden konnte. Diese Problematik wurde auch nicht durch die mehrtägige Nachverfolgung des Pilzwachstums von *Fusarium graminearum*, *Aspergillus niger* und *Penicillium verrucosum* gelöst.



Abb. 31: Fluoreszenzspektren von sterilen, unbefallenen Weizenkörnern (blau) und künstlich mit *Fusarium graminearum* inokulierten Weizenkörnern (pink)

Spektroskopische Untersuchungen von Labor- und Feldproben

In natürlich mit Mykotoxinen kontaminierten Getreideproben muss davon ausgegangen werden, dass mehrere Toxine gleichzeitig und in unterschiedlichen Mengen vorliegen. Für weitere systematische Untersuchungen zur Detektion von Mykotoxinen mittels verschiedener Methoden ist jedoch das Vorliegen nur eines Toxins von Vorteil. Deshalb wurden für weitere Modellversuche Getreideproben gezielt mit jeweils einem Mykotoxin in unterschiedlichen Mengen versetzt (gespikt). Es wurden systematisch verschiedene Einflussgrößen untersucht: Applikationsform des Getreides (ganzes Korn, Mehl), Einwirkdauer des Mykotoxins, Einfluss der Lösungsmittel der kommerziell erhältlichen Toxine auf die weiteren Untersuchungen. Die Fluoreszenzuntersuchungen der Weizenkörner auf Mykotoxine waren möglich, anhand der Wahl geeigneter Anregungs- und Detektionswellenlängen, jedoch konnte keine Quantifizierung erfolgen, weil das Mykotoxin beim Aufbringen ebenso in das Korn eindringt und damit nicht mehr an der Kornoberfläche detektiert werden kann – es kann also bestenfalls ein semi-quantitativer Nachweis erfolgen.

Auf dem Gebiet der spektroskopischen Methoden wurden die durch Laborversuche optimierten Verfahren auf Realproben übertragen. In Kooperation mit der Optimare GmbH wurde so geprüft, welche der aufgezählten Methoden bzw. Methodenkombinationen am besten für den Online-Nachweis geeignet sein könnten.

Künstlich inokulierte Weizenproben mit Schimmelpilzen konnten mittels Fluoreszenzspektroskopie bestimmt werden, jedoch nur einzelne Pilze, keine Pilzgemische wie sie bei Realproben auf dem Feld gefunden werden können. Auch wurden die "Veränderungen" erst detektiert, als der Befall schon für den Menschen ersichtlich wurde – "Verschimmelung" des Korns. Dasselbe Ergebnis ergab sich bei der Untersuchung der Getreidekörner mittels Reflektionsspektroskopie. Da Fluoreszenz- und Reflektionsspektroskopie beides Methoden zur Untersuchung von Kornoberflächen, und nicht des Inneren (d.h. ohne Aufschneiden des Korns) sind, wird dabei ein Befall des Korns im Inneren nicht berücksichtigt. Deshalb gestaltete sich der Vergleich mit Referenzuntersuchungen (z.B. HPLC-Ergebnissen) als schwierig, da die Probennahme vollkommen unterschiedlich ist. Aus einer 100 kg großen Teilprobe wurden Teilmengen für die Extraktion und für die Spektroskopie genommen. Außerdem wurden für die HPLC-Untersuchungen 100 g Materialproben extrahiert und die Mykotoxingehalte bestimmt. Bei den spektroskopischen Methoden sind nur geringe Probenmengen erforderlich (ca. 2 g für die Untersuchung mittels Reflektionsspektren), was zur Verringerung des Nachweises eines Befalls von Korn mit Pilz oder Toxin führt. Wenn die gesamte Probenmenge des Extraktionsmaterials vermessen und anschließend der Gehalt an Mykotoxinen bestimmt wurde, ergab sich eine Übereinstimmung von max. 63%. Der Nachweis eines einzelnen Mykotoxins bzw. Schimmelpilzes auf Proben direkt vom Feld ist möglich, allerdings für Realproben nicht ausreichend. Ein mögliches Szenario wäre, dass bestimmte Mykotoxine als "Leitsubstanzen" betrachtet werden, aus deren Anwesenheit dann auf einen möglichen Pilzbefall geschlossen werden kann und eine nachgeschaltete Einzelstoff-Analytik initiiert wird.

Experimenteller Aufbau zur Messung von Fluoreszenz von Getreideproben

Fa. Optimare Analytik GmbH & Co. KG

Eine der zentralen Analysentechniken der Firma Optimare Analytik GmbH & Co. KG ist die LIF-Spektroskopie. Hierfür wurde ein mobiles LIF-Spektrometer mit dem Namen OPTIMOS entwickelt, das sehr universell einsetzbar ist. Dessen Aufbau wird im Folgenden kurz beschrieben.

Das System (Abb. 32) besteht im Wesentlichen aus einem Laser (Nd:YAG, 5 ns Pulsbreite, 266 nm oder 355 nm), einem Sensorkopf und einem Detektionssystem. Licht aus dem Laser wird in einen Lichtleiter eingekoppelt und zum Sensorkopf geführt. Die vor dem Sensorkopf befindliche Probe wird zur Fluoreszenz angeregt und das Fluoreszenzlicht wird durch einen zweiten Lichtleiter zum Detektionssystem geleitet. Dieses besteht aus einem Spektrographen und einer CCD-Kamera mit integriertem Bildverstärker. Grundsätzlich werden mit dem System komplette Spektren in einem Schuss erfasst, zur Steigerung des Signal/Rausch-Verhältnisses werden jedoch üblicherweise die Spektren über mehrere Schüsse gemittelt. Der erfasste Wellenlängenbereich hängt vom eingebauten Gitter im Spektrographen ab und beträgt derzeit ca. 300 nm. Er kann durch Verdrehen des Gitters auf den gewünschten Spektralbereich eingestellt werden.



Abb. 32: Schematischer Aufbau des OPTIMOS LIF-Spektrometers, durchgehende Linie: elektrisches Signal, gestrichelte Linie: optisches Signal

Der zeitliche Ablauf sieht wie folgt aus: Das gesamte Messsystem wird von einem PC gesteuert. Dieser gibt ein Triggersignal an den Laser, worauf dessen Blitzlampe zündet. 150 µs später wird durch Triggern des Q-Switch der Laserpuls ausgelöst. Die zeitliche Steuerung der Spektrenaufnahme erfolgt über die Steuerung des Bildverstärkers. Dessen Öffnungszeitpunkt und -zeitdauer wird von einem Delay-Generator gesteuert, der die entsprechenden Parameter vom PC erhält. Die von der CCD-Kamera aufgenommenen Spektren werden an den PC übertragen (Abb. 33).



Abb. 33: Timing des Messablaufs

Damit lassen sich zeitaufgelöste Fluoreszenzspektren (Fluoreszenzintensität in Abhängigkeit von Wellenlänge und Zeit => Datenmatrix) aufnehmen, indem man die Öffnungszeit sehr kurz (im Vgl. zur Dauer der Fluoreszenzemission) einstellt und den Zeitpunkt des Öffnens schrittweise verschiebt. Man kann aber auch die Öffnungsdauer sehr groß einstellen, um das gesamte Fluoreszenzsignal mit einem Anregungspuls zu erfassen. Schließlich ist es auch möglich, den Öffnungszeitpunkt so einzustellen, dass nur ein (zeitlicher) Teil des Fluoreszenzsignals erfasst wird. Dies wird zum Beispiel angewendet, wenn die Hintergrundfluoreszenz relativ kurzlebig ist und das interessierende Fluoreszenzsignal längerlebig ist. Dann kann man den Öffnungszeitpunkt so legen, dass die Hintergrundfluoreszenz weitgehend abgeklungen ist und man hauptsächlich das gewünschte langlebige Signal erfasst.

Sensorkopf

Bei dem zum Sensorkopf führenden Lichtleiterbündel handelt es sich um einen sogenannten Y-Lichtleiter, bei dem sensorseitig die Lichtleiter parallel angeordnet sind. Die anderen beiden Enden werden dann mit dem Laser bzw. Spektrographen verbunden. In dem Standardsensorkopf (Abb. 34) wird der Lichtleiter durch ein Fenster (Quarz oder Saphir) geschützt. Dies ist schräg gestellt, damit das Anregungslicht nicht in die Lichtleiter zurück reflektiert wird. Die Messstelle hat eine Fläche von ca. 1 cm² und eignet sich damit sehr gut zur Analyse von Getreidekörnern. Falls die Ortsauflösung noch höher sein soll, z.B. weil dann auch die Messempfindlichkeit steigt, wären auch modifizierte Messköpfe denkbar.



Abb. 34: Sensorkopf für Fluoreszenzmessungen

Im Gegensatz dazu wären größere Messflecken bei gleichzeitig hoher Empfindlichkeit mit dem beschriebenen Aufbau nicht mehr möglich. Hier müsste dann direkt mit einer Kamera und Filtern gearbeitet und auf die Flexibilität durch Spektrograph und Lichtleiter verzichtet werden.

Einfluss der Absorptionseigenschaften einer Probe auf deren Fluoreszenzeigenschaften

a) Zwei-Fluss-Kubelka-Munk Theorie

Die Bestimmung der Reflektivität einer Probe ist nicht nur als alleinige Auswertung sinnvoll, sie kann auch helfen, die LIF-Daten besser zu interpretieren und zu quantifizieren. Die starke Abhängigkeit des Fluoreszenzsignals von den Parametern der Probenmatrix erklärt sich schon alleine aus der Reabsorption des Fluoreszenzlichtes in der Matrix. Schon Kortüm (1969b) bemerkt, dass die Fluoreszenzintensität im Vergleich zur diffusen Reflexion betrachtet werden müsse. Tatsächlich wurde von Löhmannsröben & Schober (1999) beobachtet, dass sich eine gute Korrektur des Einflusses der Matrixparameter durch Division der gemessenen Fluoreszenz durch die diffuse Reflexion erreichen lässt:

$$\phi(\lambda_m) = const \times F(\lambda_m) / R \tag{19}$$

$\phi(\lambda_m)$	intrinsische Fluoreszenz einer dünnen Schicht $d\phi(\lambda_m) = \beta(\lambda_m) \cdot d\phi(\lambda_m)$
-------------------	--

- $F(\lambda_m)$ gemessene Fluoreszenz
- λ_x, λ_m Anregungs-, Emissionswellenlänge
- R diffuse Reflektivität

Eine einfache heuristische Betrachtung rechtfertigt dieses Verfahren: Die Albedo lässt sich

$$a = \frac{\mu_s}{\mu_a + \mu_s} = \frac{S/2b}{A/2 + S/2b} = \frac{S}{bA + S}$$
(20)

im Fall gleichstarker Vor- und Rückwärtsstreuung, b = 1/2, mit Hilfe der Kubelka-Munk-Beziehung

$$\frac{(1-R)^2}{2R} = \frac{A}{S}$$
 (21)

umschreiben zu

$$a = \frac{4R}{(1+R)^2}$$
(22)

a

Albedo $a = \mu_s / \mu_t$ (Schwächungsfaktor auf einer mittleren freien Weglänge)

μ_t	(mikroskopischer) Extinktionskoeffizient $\mu_t = \mu_a + \mu_s$
$\mu_a = \mu_{a,ana} + \mu_{a,soil}$	Absorptionskoeffizient von Analyt und Probenmatrix (in 1/cm)
μ_s	Streukoeffizient in (1/cm)
A und S	Kubelka-Munk-Absorptions- und Streukoeffizient

Für den Fall geringer Reflexion lässt sich diese Gleichung dadurch nähern, dass der Nenner zu 1 gesetzt wird, d.h. $a \approx 4R$. Bei geringer Reflexion ist R also ungefähr proportional zur Albedo a, die dann ebenfalls klein ist.

Für die weitere Betrachtung nehmen wir an, dass das Licht bis zur mittleren freien Weglänge in die Probe eindringt. Der wahrscheinlichste Vorgang auf diesem Weg ist, aufgrund der niedrigen Albedo, die Absorption. Ein Teil der absorbierten Photonen bewirkt die Aussendung von Fluoreszenzphotonen. Wenn diese keiner Absorption unterlägen, könnte (durch einen großflächigen Detektor) direkt die intrinsische Fluoreszenz ϕ gemessen werden. Die Fluoreszenzphotonen haben aber im Mittel wieder eine freie Weglänge zu durchlaufen, bevor sie detektiert werden. Dabei wird ihre Zahl um den Faktor a verringert, es wird also nur ein Anteil F $\approx a \cdot \phi$ gemessen. Da, wie gezeigt, die Albedo a näherungsweise zur Reflexion proportional ist, kann man das Ergebnis auch mit einer Proportionalitätskonstante C ausdrücken als:

$$F(\lambda_m) = C \cdot \phi(\lambda_m) \cdot R(\lambda_m)$$
(23)

Dies ist das Verfahren von Löhmannsröben & Schober (1999) zur Ermittlung der intrinsischen Fluoreszenz. Es wird erwartet, dass diese Methode schlechter wird, wenn neben der Absorption die Streuung eine wesentliche Rolle spielt. Ob dies der Fall ist, werden die experimentellen Ergebnisse der Fluoreszenzmessungen an gemahlenem und ungemahlenem Getreide zeigen. Gegebenenfalls muss die Korrekturmethode modifiziert werden.

b) Vierfluss-Theorie

Die obige Korrekturmethode erfolgte auf Basis der Kubelka-Munk-Theorie, die jedoch nicht berücksichtigt, dass bei Fluoreszenzprozessen Anregungs- und Emissionswellenlängen unterschiedlich sind und folglich die optischen Parameter der Probe bei zwei Wellenlängen berücksichtigt werden müssen. Dies kann durch Anwendung eine Vierfluss Theorie erreicht werden.

Es bezeichnet I den Fluss des Lichtes der Anregungswellenlänge in Anregungsrichtung und J den Fluss in Gegenrichtung. Entsprechend sind K (in Richtung von I) und L (in Richtung von J) die Flüsse bei der Emissionswellenlänge. Das Differentialgleichungssystem für diese Flüsse lautet (mit A' und S' als Abkürzung für die Kubelka-Munk-Koeffizienten bei Emissionswellenlänge und A_{ana} als Absorptionskoeffizient des Analyten (= 2 $\mu_{a,ana}$)):

dl/dz = - (A+S) I + S J	(24)

- -dJ/dz = (A+S) J+ S I(25) $dK/dz = -(A'+S')K + S'L + F \mu_{ana}(I+J)$
- (26)
- $-dL/dz = -(A'+S')L + S'K+F \mu_{ana}(I+J)$ (27)



Das wird integriert Randbedingungen Gleichungssystem mit den $I(\infty) = J(\infty) = K(\infty) = L(\infty) = K(0) = 0, I(0) = 1$ und liefert dann für L(z=0), also für die beobachtete Fluoreszenz F an der Probenoberfläche. Der daraus folgende Ausdruck wird so umgeformt, dass nur noch messtechnisch erfassbare Größen vorkommen:

$$F(\lambda_m) = 2 \frac{(1+R) \cdot (1+R') \cdot R \cdot R'}{R \cdot S' + S \cdot R' - R \cdot R' \cdot (R \cdot S + R' \cdot S')} \beta(\lambda_m)$$
(28)

Die Unterschiedlichkeit der Absorption von Getreidekörnern, die sich im sichtbaren Spektralbereich durch die verschiedenen Färbungen zeigt, wurde vom Projektpartner Universität Potsdam gezeigt. Bei der Auswertung kommt es folglich darauf an, aus dem gemessenen Fluoreszenzspektrum F auf das intrinsische, von externen Einflüssen unabhängige Fluoreszenzspektrum b zu schließen und darauf Auswertemethoden anzuwenden. Gemäß F = Faktor x β wird der Korrekturfaktor gesucht, mit dem sich F in β überführen lässt.

Monte-Carlo-Modellierung der Lichtausbreitung in der Probe

Die Beeinflussung des messbaren Fluoreszenzspektrums F von Mykotoxin-belastetem Getreide durch die Lichtabsorption im Getreidekorn konnte in der Anfangsphase des Projektes experimentell noch nicht untersucht werden. Um die beschriebenen Korrekturverfahren unter verschiedenen Bedingungen dennoch testen zu können, wurde ein Simulationsprogramm entwickelt, dass die Prozesse (Vielfach-)Streuung, Absorption und Fluoreszenzemission beschreibt. Für solche Fälle stehen keine allgemeinen Lösungen der Strahlungsflussgleichung zur Verfügung. Bei verschiedenen verwandten Fragestellungen – vor allem aus dem Bereich der Medizin – haben sich Monte-Carlo-Simulationen als geeignet erwiesen. Es wurde daher eine Monte-Carlo-Simulation erstellt, d.h. es wird das Schicksal einer Vielzahl von Photonen(-Paketen) verfolgt, die den oben beschriebenen Prozessen unterliegen. Damit können systematisch bestimmte Probenparameter variiert, und deren Einfluss auf das Fluoreszenzspektrum und das Reflektionsspektrum untersucht werden, und das vielfältiger, als es experimentell durchführbar wäre. Die Simulationen können experimentelle Untersuchungen natürlich nicht ersetzen aber sinnvoll ergänzen.

Das Programm simuliert die Lichtausbreitung in einer streuenden und absorbierenden Probe (Abb. 35). Das Anregungslicht trifft auf eine in x- und y-Richtung unendlich ausgedehnte Probenschicht einer einstellbaren Dicke. Die Probe selbst wird als homogene Mischung des Getreides und eines Analyten angenommen. Der Brechungsindex der Probe bestimmt das Verhalten des Lichtes bei Kontakt mit der Oberfläche (Transmission und Reflexion nach den Fresnel'schen Transmissionsformeln). Da dabei der Winkel zwischen der Richtung des Lichtes und der Oberfläche relevant ist, muss die Oberflächenform im Modell spezifiziert werden. Die "hintere" Probenoberfläche wird als Ebene modelliert, die "vordere" als glatte oder wahlweise gewellte Fläche.



Modellmatrix

Abb. 35: Illustration der Lichtausbreitung in der Probe

Die Streu- und Absorptionskoeffizienten sind wellenlängenabhängig. Für die Simulation ist deshalb ihr Spektrum vorzugeben. Es hat sich gezeigt, dass man brauchbare Modellierungen der Situation in realen Matrices erhält, wenn man für die Streuung ein Potenzgesetz (wie bei Rayleigh-Streuung) und für die Absorption ein Exponentialgesetz ansetzt. Das Simulationsprogramm verwendet dies als Vorgabe, bietet aber auch andere Möglichkeiten. Die Matrixabsorption kann zusätzlich noch durch den Darkness-Faktor skaliert werden. Der gestreute Anteil erfährt eine zufällige Richtungsänderung, deren Winkelverteilung aus einer Theorie des Streuprozesses kommen muss. Es gibt zwei plausible Wahlen dafür: Rayleighstreuung mit der Wahrscheinlichkeitsverteilung des Streuwinkels

$$p(\theta) = \frac{3}{4} (1 + \cos^2(\theta))$$
(29)

und Henyey-Greenstein-Streuung,

$$p(\theta) = \frac{1 - g^2}{\left(1 + g^2 - 2g\cos(\theta)\right)^{3/2}}$$
(30)

die von einem Parameter g (Anisotropie-Faktor) abhängt.

Die Fluoreszenz des Analyten wird als isotrope Fluoreszenz folgendermaßen modelliert:

Von der gesamten, nach einer freien Weglänge absorbierten Intensität, erhält der Analyt den Anteil

$$\frac{\mu_{a,ana}}{\mu_{a,ana} + \mu_{a,soil}}$$
(31)

Seine Quantenausbeute bestimmt, welcher Anteil davon zur Fluoreszenz führt. Deren spektrale Verteilung muss als Modellparameter spezifiziert werden.

Algorithmus

Der Monte-Carlo-Algorithmus simuliert die zufälligen Wege einer großen Zahl von Photonen durch den Boden mit zufälligen Streu- und Absorptions- und Fluoreszenzprozessen. Dabei wird zur Effizienzsteigerung mit Photonenpaketen gearbeitet. Die Paketgröße wird durch ein Gewicht angegeben, das zu Beginn auf 1.0 gesetzt wird. Durch Absorption und Verlassen der Probe verringert sich das Gewicht bis es unter eine bestimmte Größe fällt.

Auf dem Weg einer freien Weglänge kommt es zur Absorption eines einzelnen Photons mit der Wahrscheinlichkeit

$$1 - a = \frac{\mu_a}{\mu_a + \mu_s} \tag{32}$$

die Intensität des Photonenpakets reduziert sich also um den Faktor a (Albedo).

Das Flussdiagramm (Abb. 36) unten zeigt die wesentlichen Schritte während der Simulation.



Abb. 36: Flussdiagramm für Monte-Carlo-Simulation der Lichtausbreitung

Für aussagekräftige Ergebnisse sind mindestens 100000 Photonenpakete zu simulieren. Zur Überprüfung, ob die simulierten Daten plausibel sind wurde die Messung von Kalibrierproben simuliert, bei der zum einen die Analytkonzentration variiert wurde und zum anderen die Gesamt-Helligkeit. Wie erwartet steigt die Fluoreszenzintensität mit der Konzentration des Analyten und die Steigung der Kalibriergerade hängt von der Helligkeit der Probe ab (Abb. 37).



Abb. 37: links: simuliertes Spektrum, rechts: simulierte Kalibriergerade

Vergleich der Verfahren zur Korrektur der Matrixabhängigkeit der Fluoreszenz mit Hilfe der Monte-Carlo-Simulation

Bei der Auswertung von Fluoreszenzspektren kommt es darauf an, aus dem gemessenen Fluoreszenzspektrum F auf das intrinsische, von externen (Matrix-)Einflüssen unabhängige Fluoreszenzspektrum β zu schließen und darauf Auswertemethoden anzuwenden. Gemäß F = $k \ge \beta$ wird der Faktor k gesucht, mit dem sich F in β überführen lässt. Diese Korrektur müsste für den gesamten auszuwertenden Wellenlängenbereich durchgeführt werden, es sei denn, man beschränkt sich auf eine einzelne auszuwertende Wellenlänge.

Während die Bestimmung von R bzw. R' parallel zur Fluoreszenzmessung experimentell möglich ist – wie die Umsetzung denkbar ist, hängt von der Messgeometrie ab – ist die Bestimmung des Streukoeffizienten S experimentell aufwändiger und vermutlich nicht on-line und *in situ* umsetzbar. Um eine Korrektur gemäß Glg. 23 dennoch durchführen zu können, wurde ein Modell für die Höhe des Streukoeffizienten (wellenlängenabhängig) angenommen. Dies basiert auf Messdaten von Sand, der von den optischen Eigenschaften den Getreidekörnern ähnlich erscheint, und durch eine λ^{-4} -Funktion angepasst wurde:

$$S(\lambda) = 100 \ (\lambda_0 / \lambda)^4 \tag{33}$$

 λ_0 : Anregungswellenlänge (266 nm).

Monte-Carlo-Simulation der Lichtausbreitung

Die Beeinflussung des messbaren Fluoreszenzspektrums F von Mykotoxin-belastetem Getreide durch die Lichtabsorption im Getreidekorn ist experimentell schwierig zu bestimmen. Um die Korrekturverfahren unter verschiedenen Bedingungen dennoch testen zu können, wurde die Lichtausbreitung in der Probe durch Monte-Carlo-Simulation modelliert.

Es können (und müssen) alle relevanten optischen Parameter der Probenmatrix und des Analyten vorgegeben werden, insbesondere:

- Absorptionskoeffizient der Matrix (1/cm), Spektrum
- Streukoeffizient der Matrix (1/cm), hier: $S(\lambda) = 100 (\lambda_0/\lambda)^4$
- Konzentration und Extinktionskoeffizent des Analyten
- Fluoreszenzquantenausbeute und -spektrum des Analyten

Als Simulationsergebnis erhält man dann ein "gemessenes" Fluoreszenzspektrum sowie das dazugehörige diffuse Reflexionsspektrum.

Ziel der Simulationsrechnungen war es, verschiedene Korrekturverfahren anzuwenden, damit überprüft werden kann, welche Parameter einen starken Einfluss haben und welche einen weniger starken. Folgende Verfahren wurden verglichen:

- 1. LöhScho: Division von F durch R' (Löhmannsröben & Schober 1999)
- 2. OP1: Division von F durch (R + R') / 2 (heuristischer Ansatz)
- 3. OP2: Glg. 23 (mit λ^4 Modell für S)

Durchführung der Simulation

Zur Überprüfung der Korrekturverfahren wurden Kalibrierkurven simuliert, in dem die Fluoreszenz von Proben mit typisch vier verschiedenen Analytkonzentrationen berechnet wurde. Um die Rechnung zu beschleunigen, wurde nur bei der Wellenlänge des Fluoreszenzmaximums ausgewertet.

Nun wurde die Gesamtabsorption (Helligkeit) der Probenmatrices in vier Schritten variiert, so dass man insgesamt 4 x 4 Proben mit vier verschiedenen Analyt-Konzentrationen und vier verschiedenen Matrix-Färbungen simuliert. In der Abbildung unten beschreiben die verschiedenen Farben der Geraden verschiedene Probenhelligkeiten. Zur besseren Übersicht sind die Daten auf 1 normiert (Abb. 38).



Abb. 38: Simulierte Kalibriergeraden (Fluoreszenzintensität vs. Analytkonzentration bei verschiedenen Probenhelligkeiten ohne (oben links) und mit Korrektur der Matrix-Absorption

Folgendes fällt auf:

Die unkorrigierten Daten zeigen das erwartete Verhalten, die Steigung der Kalibrierdaten variiert deutlich mit der Helligkeit der Probenmatrix.

- Das Korrekturverfahren LöhScho reduziert die Abhängigkeit des Fluoreszenzsignals von der Probenhelligkeit bereits deutlich.
- Das Verfahren OP1 verbessert die Korrektur nur geringfügig.
- Das Verfahren OP2 bringt wiederum eine deutliche Verbesserung der Korrektur, der Einfluss der Probenhelligkeit auf das Fluoreszenzsignal wurde fast vollständig korrigiert.

Die Wirkung der Korrekturverfahren wurde unter verschiedenen Bedingungen getestet: Zunächst wurden zwei verschiedene Gesamthelligkeiten der Probenmatrix simuliert. Weiterhin wurde überprüft, wie gut die Korrekturfunktionen wirken, wenn nicht, wie im Vierfluss-Modell, von diffuser Anregung ausgegangen wird, sondern von kollimierter Anregung, wie man es üblicherweise mit dem Laser erreicht.

Da, wie oben erwähnt, die Streufunktion der Probe nicht *in-situ* bestimmt werden kann, wurde auch noch simuliert, wie groß der Fehler bei der Spektrenkorrektur ist, wenn man diese Funktion mit falschen (von der Simulation abweichenden) Parametern verwendet.

Die Ergebnisse wurden wie folgt ausgewertet:

Für Proben gleicher Konzentration aber verschiedener Helligkeiten wurden die relativen Abweichungen (= Standardabweichung/Mittelwert) der Fluoreszenzintensität berechnet. Diese relativen Abweichungen wurden für alle Konzentrationen berechnet und wiederum gemittelt. Diese Auswertung wurde zum Einen mit den Rohdaten, zum Anderen mit den nach den oben beschriebenen Verfahren korrigierten Intensitäten durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Abb. 39 graphisch dargestellt.



Abb. 39: Relativer Fehler der Kalibrierkurven mit und ohne Korrektur der Matrix-Absorption Var. S: $S(\lambda) = 200 (\lambda_0 / \lambda)^3$ statt $S(\lambda) = 100 (\lambda_0 / \lambda)^4$

Die obigen Simulationsergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Alle Verfahren reduzieren die Abhängigkeit der Fluoreszenzintensität von der Probenhelligkeit.
- Alle Korrekturverfahren wirken besser, wenn bei der Simulation diffus angeregt wird. Dies ist verständlich, da die den Korrekturverfahren zugrunde liegenden Modelle ebenfalls von diffuser Beleuchtung ausgehen (Rechnungen zeigen, dass bei diffuser Beleuchtung die Reflektivität höher und die Eindringtiefe geringer ist als bei kollimierter Beleuchtung).
- Das Korrekturverfahren OP2 bringt noch einmal unter allen Bedingungen eine Verbesserung der Korrektur gegenüber dem LöhScho-Verfahren, selbst wenn der in das Verfahren eingehende Streukoeffizient fehlerhaft ist.
- Die Korrekturverfahren zeigen bei der dunkleren Probenmatrix bessere Ergebnisse als bei der helleren.

Konzept für ein Mykotoxin-Messsystem zur gleichzeitigen Messung von Fluoreszenz und Reflektion

In der Anfangsphase des Projektes lagen noch keine Schimmelpilz-belasteten Getreideproben vor, so dass an der Universität Potsdam spektroskopische Untersuchungen mit Roggenvollkornmehl durchgeführt wurden, das mit Ochratoxin A (OTA) kontaminiert war. Diese Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- a) OTA Fluoreszenz lässt sich um 330 nm und um 380 nm gut anregen und oberhalb 400 nm gut detektieren. Die Korrelation dieser Daten mit der Konzentration ist jedoch schlecht. Die Qualität der Korrelation wird deutlich besser, wenn man stattdessen das Verhältnis der Fluoreszenzsignale beider Anregungswellenlängen aufträgt. So wurden Nachweisgrenzen von 30 ppm erreicht.
- b) Reflexionsspektren von Roggen mit Pilzbefall unterscheiden sich von unbefallenen besonders deutlich oberhalb der Wellenlänge 400 nm.

Für das Sensorkonzept bedeutet dies, dass mindestens in zwei Wellenlängenbereichen (330 nm und 380 nm) angeregt und oberhalb von 400 nm die Fluoreszenz gemessen werden muss. Um Punkt b zu berücksichtigen, bietet es sich an, die Fluoreszenz um 430 nm zu detektieren und gleichzeitig eine weitere Anregungswellenlänge um 430 nm vorzusehen, damit die Reflexion in diesem Bereich gemessen werden kann. Man hätte dann insgesamt drei Anregungslichtquellen (330 nm, 380 nm, 430 nm) und eine Detektionswellenlänge um 430 nm. Als Lichtquellen für die Anregung sind hier Xe- Blitzlampen mit geeigneten Filtern zur Eingrenzung der Anregungswellenlängen vorgesehen.

Wie so ein Messaufbau aussehen kann, ist in Abb. 40 zu erkennen. Die drei Lichtquellen werden durch dichroitische Strahlteiler (Langpassfilter mit Wellenlängen 400 nm und 350 nm) auf eine Strahlachse vereint und auf die Probe gelenkt. Hier besteht die Möglichkeit,

durch Einbau einer Scan-Optik die Probe ortsaufgelöst zu vermessen. In der Illustration ist dies am Beispiel eines mit Getreide gefüllten Förderbandes dargestellt.

Die Detektion, welche voraussichtlich mit einem Photomultiplier erfolgen wird, ist als separater Aufbau dargestellt. Grundsätzlich wäre auch eine Integration der Detektionsoptik in das Anregungsmodul denkbar. In diesem Fall müsste der Detektor oben, also an der rückseitigen Verlängerung der Strahlachse der Anregung angebracht sein.

Da jedoch der 430 nm Messkanal auch die Reflektion registrieren soll, ist eine Abwinkelung der Detektionsachse ratsam. Denkbar wäre auch, die Detektion der reflektierten Strahlung bei 430 nm durch einen zusätzlichen Detektor zu erfassen. Dieser könnte dann durchaus einfacher und somit kostengünstiger sein, da die Lichtintensität der reflektierten Strahlung deutlich höher sein wird als die der Fluoreszenzstrahlung.

Die Integration des Detektors in das Anregungsmodul würde darüber hinaus auch die Einbindung eines Scanners erleichtern. Mit diesem könnte dann das Förderband quer zu Transportrichtung abgetastet werden.



Abb. 40: Optischer Aufbau (Konzept) eines Mykotoxindetektionssystems

Die verwendeten Anregungs- und Detektionswellenlängen ließen sich noch entsprechend dem Projektfortschritt verändern. Die Ergebnisse der Fluoreszenzmessungen an Realproben im weiteren Projektverlauf deuten jedoch darauf hin, dass eine Beschränkung auf nur wenige Messwellenlängen nicht ausreicht, um belastete von unbelasteten Proben zu unterscheiden. Dieses Konzept wurde daher nicht in eine Geräteentwicklung umgesetzt.

Auswertung der Fluoreszenzmessungen von Schimmel-befallenen Getreidekörnern

Die nachfolgend beschriebenen Untersuchungen hatten das Ziel, mögliche Anregungs- und Emissionswellenwellenlängen für einen Mykotoxinsensor zu identifizieren. Die Messungen wurden an der Universität Potsdam durchgeführt.

Zur Übersicht wurden von den Proben (Weizenkörner alleine und Schimmel belastete Weizenkörner) Fluoreszenzemissionsspektren mit Anregungswellenlängen von 220 nm bis 500 nm und Emissionswellenlängen ab 10 nm oberhalb der Anregungswellenlänge aufgenommen. In Abb. 41 oben wurden die Fluoreszenzdaten zu besseren Übersicht als totales Fluoreszenzspektrum oder auch EEM-Spektrum (Excitation Emission Matrix) dargestellt.



Abb. 41: Anregungs-Emissions-Matrix der Fluoreszenz von unbelasteten sowie mit verschiedenen Schimmelpilzen belasteten Weizenkörnern

Hier wird die Fluoreszenzintensität als Funktion von Anregungs- und Emissionswellenlänge als Farbe dargestellt. Den Zusammenhang von Farbe zu einem Intensitätswert verdeutlicht der rechts neben den Abbildungen dargestellte Farbbalken. Das Spektrum oben links zeigt die Fluoreszenz der unbelasteten Probe (Weizenkörner), die übrigen drei Grafiken die Fluoreszenz von verschiedenen Pilz belasteten Weizenproben.

Die Spektren werden dominiert von der Fluoreszenz der natürlichen Weizenbestandteile und unterscheiden sich in dieser Darstellung nicht sichtbar, d.h. die Fluoreszenz der belasteten Weizenkörner ist hier nicht zu unterscheiden von der Fluoreszenz der unbelasteten Körner. Es zeigt sich jedoch ein etwas differenzierteres Bild, wenn die Farbskalierung so geändert wird, dass noch Unterschiede bei den niedrigen Intensitäten sichtbar werden. Für die Abb. 42 wurde die Skalierung so geändert, dass bereits 10% der maximalen Intensität den Vollausschlag (dunkelrot) bewirken. Daher ist jeweils etwa der untere Bildteil übersteuert.



Abb. 42: Anregungs-Emissions-Matrix der Fluoreszenz von unbelasteten (oben links) sowie mit verschiedenen Schimmelpilzen belasteten Weizenkörnern (niedrige Intensitäten hervorgehoben)

Auffällig ist jedoch das Aussehen im rot markierten Bereich in der Grafik oben links (unbelastete Weizenkörner) und in den entsprechenden Regionen in den übrigen Grafiken (pilzbelastete Weizenkörner).

Bei Anwesenheit von fluoreszenzfähigen Mykotoxinen würde man im rot markierten Spektralbereich eine Zunahme der Fluoreszenzintensität erwarten. Beobachtbar ist hingegen eine mehr oder weniger deutliche Abnahme der Fluoreszenz bei Anwesenheit von Schimmelpilzen. Dies kann mehrere Ursachen haben:

- b) Durch die Schimmelpilze werden die natürlichen Pflanzeninhaltsstoffe soweit chemisch verändert, dass sich die Fluoreszenzeigenschaften mit ändern oder schlicht abgebaut werden.
- c) Die verschiedenen Fluoreszenzintensitäten der vier dargestellten Proben haben natürliche Ursachen, d.h. die Konzentrationen bzw. die Konzentrationsverhältnisse der Inhaltsstoffe sind variabel. Die Grafiken wurden auf das Fluoreszenzmaximum bei 240 nm Anregung und 400 nm Emission skaliert. Dies impliziert praktisch, dass man ein konstantes Konzentrationsverhältnis zwischen den dort fluoreszierenden Inhalts-

stoffen und den bei 400 nm Anregungswellenlänge anregbaren Stoffen erwartet. In welchem Maße das der Fall ist, müsste aber noch geklärt werden.

Je nachdem, welche Ursache für die geringere Fluoreszenzintensität im markierten Spektralbereich der Pilz befallenen Weizenproben verantwortlich ist, besteht die Aussicht, diese Abnahme der Fluoreszenzintensität als Indiz für Schimmelpilzbefall auszuwerten. Dies wird im Folgenden in der gleichen Reihenfolge wie oben diskutiert:

a) Ist allein eine Verfärbung durch den Pilzbefall für die Verringerung der messbaren Fluoreszenzintensität verantwortlich, wäre dies sicher auswertbar. Um dies zu überprüfen wurde die Reflektion von Weizen mit der von Pilz befallenem Weizen in dem für Fluoreszenzspektren relevanten Spektralbereich verglichen (Abb. 43).



Reflektionsdaten von Weizen mit und ohne Pilz

Abb. 43: Diffuse Reflektionsspektren von unbelasteten sowie mit verschiedenen Schimmelpilzen belasteten Weizenkörnern

Die schwarze durchgezogene Kurve zeigt die Reflexion des Weizens, die gepunkteten Kurven zeigen die Standardabweichung der Weizenmessung bei Wiederholungsmessungen. Letztere wurden zwar bei verschiedenen Feuchten gemessen, da aber keine systematische Veränderung der Spektrenform mit dem Feuchtegrad feststellbar war, wurden die Abweichungen als Messfehler interpretiert und entsprechend ausgewertet.

Die weiteren Spektren zeigen Reflexionen der Pilz belasteten Weizenkörner. Interessanterweise liegen diese Kurven größtenteils über der Kurve von Weizen, d.h. sie haben eine etwas höhere Reflektivität. Die Annahme einer Verfärbung der Körner, die die messbare Fluoreszenz beeinträchtigen könnte, ist hier nicht zutreffend. Insgesamt sind die hier gemessenen Veränderungen der Reflektivität recht gering.

b) Wenn ein Pilzbefall die natürlichen Fluoreszenzeigenschaften des Getreides verändert, wäre ein Pilzbefall so indirekt feststellbar, auch wenn die Fluoreszenz der Toxine noch nicht nachweisbar ist. Voraussetzung ist, dass die Schwankungsbreite der Fluoreszenz der natürlichen Getreideinhaltsstoffe gering ist oder zumindest der Anteil der einzelnen Stoffgruppen in einem konstanten Verhältnis steht. Damit hätte man eine Art internen Standard, auf den man normieren könnte.

c) Wenn die beobachtete Veränderung der Fluoreszenzintensität auf natürliche Variation der Inhaltsstoffe zurückzuführen wäre, bestünde keine Möglichkeit, den entsprechenden Spektralbereich für eine Auswertung hinsichtlich Mykotoxine heranzuziehen. Es wäre daher sinnvoll, sich alle vorhandenen Messdaten von Weizen diesbezüglich genauer anzusehen und gegebenenfalls zu ergänzen.

Die genaue Ursache für das beschriebene Fluoreszenzverhalten konnte im Rahmen des Projektes nicht mehr geklärt werden.

Laser-Ionenmobilitätsspektrometrie

Grundlagen der Ionenmobilitätsspektrometrie

Die Ionenmobilitäts (IM)-Spektrometrie spielt eine wichtige Rolle für mobile vor-Ort-Untersuchungen und erlaubt eine Analytik in Echtzeit. Konventionelle IM-Spektrometer, welche radioaktive Quellen (meist auf der Basis von ⁶³Ni-Folien als β -Strahler) oder Vakuum-UV-Lampen als kontinuierliche Ionisationsquellen zur Ionisierung der Analyten verwenden, werden bisher hauptsächlich für den Nachweis von Drogen, Kampf- und Explosivmitteln eingesetzt. Die Analytionen werden über ein gepulstes Ionentor aus der Ionisationszone in den Driftraum überführt und dort unter dem Einfluss eines elektrischen Feldes bei Atmosphärendruck auf Grund ihrer unterschiedlichen Wanderungsgeschwindigkeiten aufgetrennt und an einer Faradayplatte detektiert. Die Driftgeschwindigkeit v_D , ermittelt aus dem Driftweg des Ions I und der gemessenen Driftzeit t_D , ist für eine Ionenart proportional zur Feldstärke, die Proportionalitätskonstante wird als Ionenmobilität *K* bezeichnet und reflektiert die Ioneneigenschaften, wie Ladung, Masse und Diffusionsquerschnitt (Form) des Ions.

$$v_{\rm D} = l/t_D = K * E \tag{34}$$

IM-Spektrometer mit radioaktiver Quelle sind kompakt aufgebaut, da für die Ionisationsquellen keine Elektronik benötigt wird, und zeichnen sich durch hohe Nachweisempfindlichkeiten und gute Ansprechzeiten aus. Ein wesentlicher Nachteil dieser Geräte ist ihre geringe Selektivität, die aus der begrenzten Auflösung und der unspezifischen Ionisation resultiert. Das nachzuweisende Substanzspektrum ist sehr beschränkt, Ausnahmen, wie der selektive Nachweis von chemischen Kampfstoffen und Explosivmitteln, beruhen auf deren hohen Protonen- bzw. Elektronenaffinitäten und der damit verbundenen Möglichkeit der Verwendung spezieller Dopants, die selektive Ladungsaustauschreaktionen erlauben. Ein weiteres Problem stellt die Anfälligkeit der konventionellen IM-Spektrometer gegenüber der Änderung der Luftfeuchtigkeit auf Grund der Beeinflussung der Ladungstransferreaktionen durch variablen Wassergehalt dar. Zudem besteht der Wunsch nach einem Ersatz der radioaktiven Quelle, womit die Einsatz- und Zulassungsbeschränkungen während der Lebenszeit des Gerätes sowie die Entsorgungsproblematik am Ende der Lebenszeit des Gerätes entfallen würden.

Laser-Ionenmobilitätsspektrometrie

Die genannten Limitierungen der konventionellen IM-Spektrometrie können durch den Einsatz von Pulslasern mit durchstimmbaren Emissionen im UV-Bereich als Ionisationsquelle überwunden werden. Ein wesentlicher Unterschied ist zunächst, dass die Ionen nicht kontinuierlich, sondern gepulst gebildet werden (zumeist 10 Hz), womit auf ein Ionentor verzichtet werden kann. Den prinzipiellen Aufbau eines Laser-IM-Spektrometers (LIMS) zeigt Abb. 44. Die kleineren Moleküle wandern schneller durch die Driftröhre und erreichen den Detektor deutlich früher als die größeren Moleküle.



Abb. 44: Funktionsprinzip eines Laser Ionenmobilitätsspektrometers (LIMS)

Das IM-Spektrum (Abb. 44 rechts) gibt den Ionenstrom/mA oder mV als Funktion der Driftzeit in ms wieder. Ein Triggerpuls (t₀) leitet den Messvorgang ein. Von diesem Zeitpunkt an wird mit einer bestimmten Messwertrate der Ionenstrom über einen Zeitraum von gewöhnlich 5 bis 20 ms gemessen. Das analoge Signal kann entweder mit einem Oszilloskop oder mit einem Boxcar-Integrator verfolgt werden. Mit der Leistungsfähigkeit heutiger Mikroprozessoren und PCs wird das Signal mit entsprechenden Analog-Digitalwandlern direkt digital zur Anzeige gebracht. Wenn ein Spektrum stark verrauscht erscheint, so besteht die Möglichkeit der Spektrenakkumulation. Hierbei werden zur Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses beliebig viele Spektren zunächst akkumuliert und das gemittelte Spektrum anschließend dargestellt.

UV-Laser erlauben eine hochselektive lonisation von Molekülen mit einem chromophoren System durch resonante Zweiphotonenabsorption (1+1-REMPI). Im Prozess der 1+1-REMPI führt ein Photon zur Anregung des Moleküls in den S1-Zustand und ein zweites gleicher Wellenlänge zu dessen Ionisation. Dabei wird das Gasphasen-UV-Absorptionsspektrum der nachzuweisenden Analytmoleküle beprobt. Die Kombination von 1+1-REMPI mit der IM-Spektrometrie führt zu einer zweidimensionalen Analytik, d.h. einer Auftrennung der Analyten entsprechend ihrer Ionenmobilität und ihres Gasphasenabsorptionsspektrums (Einführung "optischer Selektivität"). Durch resonante Anregung der Analytmoleküle lassen sich die Selektivität und Querempfindlichkeit entscheidend verbessern. Der Dynamikbereich kann durch Anpassen der Laserintensität auf mehrere Größenordnungen erweitert werden, während er für radioaktive Quellen lediglich etwa 2,5 Größenordnungen beträgt. Zudem wird der Einfluss der Luftfeuchtigkeit auf die Analyse stark verringert. Durch die selektive Laserionisation lassen sich hauptsächlich Monoaromaten und polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) nachweisen. Polare Moleküle ohne chromophores System hingegen, zu denen auch viele der zu untersuchenden Schimmelpilz-Metaboliten gehören, können direkt nur durch Anwendung höherer Multiphotonenionisations (MPI)-Schemata nachgewiesen werden, wobei mehrere Photonen für den Absorptions- und/oder Ionisationsschritt erforderlich sind. Dabei geht der Vorteil des selektiven Nachweises im Vergleich zur resonanten Zweiphotonenionisation verloren, und es sind signifikant höhere Laserenergien zur Ionisierung der Analyten erforderlich. Das kann unter Umständen extensive Fragmentierungsreaktionen zur Folge haben, die das IM-Spektrum sehr komplex gestalten und seine Interpretation sehr erschweren oder ganz unmöglich machen.

Eine alternative Methode, solche polaren Analyten mittels Laser-IM-Spektrometrie selektiv nachzuweisen, ist die indirekte Ionisation über Ionen-Molekül-Reaktionen (IMR) mit Dopants, die mittels 1+1-REMPI ionisiert werden können. Diese Methode wurde von der Fa. Optimare in Zusammenarbeit mit der Universität Potsdam, Institut für Chemie entwickelt. Dabei wird zunächst der Dopant direkt ionisiert, und das resultierende Radikalion reagiert nachfolgend mit dem polaren Analyten zu charakteristischen Produktionen. Dabei Iassen sich im Wesentlichen zwei Reaktionsklassen anwenden, einerseits Protonentransferreaktionen (PTR) und andererseits Komplexbildungsreaktionen (KBR). Bei der indirekten Ionisation über Dopants kann durch Variation der Laserenergie analog zur direkten Laserionisation der Dynamikbereich und die Sensitivität im Vergleich zur konventionellen IM-Spektrometrie gesteigert werden.

Ein weiterer Vorteil der Laser-IM-Spektrometrie ist die Möglichkeit, Feststoffproben von Oberflächen zu desorbieren, wobei im gleichen Schritt auch die Ionisierung der Proben erfolgt. Die Desorption mit einem Laser hat gegenüber der thermischen den Vorteil, dass der Desorptionsvorgang oftmals schneller und vollständiger verläuft. Zudem liegen meist mildere Bedingungen vor, wodurch eine geringere Fragmentierung des Analyten resultiert. Mithilfe des fokussierten Laserstrahls ist es möglich, eine weitgehend zerstörungsfreie Desorption verschiedener Substanzen mit einer Ortsauflösung im Mikrometerbereich zu erzielen. Durch Einsatz einer beheizten Kapillare, mit der die desorbierte Substanz direkt in den Reaktionsraum des IMS geleitet wird, wird zudem ein sehr empfindlicher Nachweis erreicht.

Ergebnisse der Messungen mit der LIMS

Neben der Fluoreszenzspektroskopie sollte im Rahmen des Projektes von Optimare Analytik GmbH & Co. KG auch die Eignung der LIMS zur Detektion von Mykotoxinen untersucht werden.

Da die Mykotoxine schwer flüchtig und photochemisch nicht stabil sind, erschien der indirekte Nachweis über deren leicht flüchtige Metaboliten (MVOC) aussichtsreicher. Die meisten MVOC sind allerdings polare Moleküle, die nicht durch effiziente 1+1-REMPI, sondern nur durch höhere MPI-Schemata ionisiert werden können. Daher ist die direkte Ionisation mit zu hohen Detektionsgrenzen (LOD = limit of detection) verbunden und oft mit Fragmentierung des Molekülions. Folglich wurde indirekte Ionisation über Ionen-Molekül-Reaktionen mit aromatischen Dopants (PTR und KBR) zum Nachweis der MVOC angewendet.

Für die Ionisation der aromatischen Dopants wurde ein frequenzvervierfachter Nd:YAG-Laser (266 nm) genutzt. Die aromatischen Dopants und MVOC wurden in Diffusions- oder Permeationsröhrchen platziert und über ein Trägergas (Helium oder Stickstoff) in die Ionisationsregion eingeführt. Die Konzentrationen wurden über Verdünnung mit einem System von Massenflussreglern eingestellt. Bestimmt wurden die Konzentrationen in den Permeationsröhrchen über Differenzwägungen. Dabei wurden für die eingesetzten MVOC folgende Werte ermittelt: 1-Octen-3-ol: 7 ppb, 2-Hexanon: 13 ppb, 2-Methylfuran: 51 ppb, Dimethyldisulfid: 22 ppb, 3-Oktanon: 2 ppb, 2-Methyl-3-buten-2-ol: 3 ppb, Dimethylsulfid: 73 ppb.

Für die Detektion polarer Moleküle über PTR ist Toluol ein sehr geeigneter Dopant. Toluol kann sehr sensitiv und fragmentfrei über 1+1-REMPI bei 266 nm mit Laserenergien kleiner 100 µJ ionisiert werden. Vom Toluolradikalkation (Tol+) erfolgt dann Protonentransfer zu den polaren Molekülen, wobei in Abhängigkeit von der Protonenaffinität und Konzentration des Analyten protonierte Monomere, Dimere oder beide Formen gebildet werden, die neben Tol+ im IM-Spektrum erscheinen. Abb. 45 zeigt ein IM-Spektrum für die Reaktion des Toluolradi-kalkations (Tol+) mit 2-Hexanon und Abb. 46 mit 1-Octen-3-ol.



Abb. 45: IM-Spektrum für die Reaktion von Tol+ mit 2-Hexanon



Abb. 46: IM-Spektrum für die Reaktion von Tol+ mit 1-Octen-3-ol

Ein weiterer geeigneter Dopant für den indirekten Nachweis von polaren Molekülen ist Phenol. In Abhängigkeit von der Protonenaffinität des Analyten bilden sich wie bei Toluol protonierte Spezies oder Komplexe mit dem Phenolradikalkation (Phe+). Die Abb. 47 zeigt das Reaktionsspektrum von Phe+ mit 1-Octen-3-ol.



Abb. 47: IM-Spektrum für die Reaktion von Phe+ mit 1-Octen-3-ol

Wie Toluol lässt sich auch Phenol leicht über 1+1-REMPI bei 266 nm ionisieren. Erfolgt die Reaktion über Komplexbildung (KBR) mit Phe+, werden immer sehr einfache und übersichtliche IM-Spektren erhalten, in denen neben Phe+ lediglich der Komplex mit dem Analyten erscheint. Dieser ist zudem immer zu höheren Driftzeiten verschoben, so dass eine Peaküberlappung, anders als bei PTR, ausgeschlossen ist. Die Vereinfachung des Reaktionsspektrums wird am Beispiel der Detektion des 1-Octen-3-ol deutlich.

Eine wichtige experimentelle Randbedingung ist die Wahl des Trägergases. Die ersten Untersuchungen wurden mit Helium als Trägergas durchgeführt, was für Laborexperimente sehr gut geeignet, für die geplante industrielle Anwendung aber zu kostspielig ist. Hierfür kommt entweder aufbereitete Luft oder Stickstoff in Frage. Die in Helium durchgeführten Experimente wurden daher mit Stickstoff als Trägergas wiederholt. Die oben abgebildeten Spektren der MVOC zeigen bereits Messdaten mit Sticksoff als Driftgas.

Der Wechsel auf Stickstoff hat auf die IMS-Spektren zweierlei Effekte. Zum Einen erhöhen sich die Driftzeiten, da die größeren Stickstoff-Moleküle einen größeren Widerstand darstellen als die kleineren Heliumatome. Zum Anderen verbreitern sich die Spektren. Dies hängt zumindest zum Teil mit der längeren Driftzeit zusammen (Diffusionsverbreiterung), die Trennung bei mehreren Peaks wird aber, mehr oder weniger deutlich, schlechter. Bei der Analyse von Reinsubstanzen stellt dies kein Problem dar, da man es in der Praxis jedoch eher mit komplexen Mischungen zu tun hat, wird dadurch die Auswertung erschwert. In wieweit die Trennleistung unter realen Messbedingungen hinreichend ist, kann nur in einem praxisnahen Test festgestellt werden.

Gerätekonzept für ein LIMS-Spektrometer

Aufgrund der vielversprechenden Ergebnisse bei der Detektion von Schimmelpilz-Metaboliten mit dem LIMS wurde der bei Optimare Analytik GmbH & Co. KG vorhandene Laboraufbau in Richtung eines kommerzielles LIMS-System weiterentwickelt. Dies bedeutet eine rechnergesteuerte Schaltung der Gasflüsse (Probengas, Trägergas, Dopant), rechnergesteuerter Messablauf und Datenverarbeitung sowie einer Bediensoftware. Das dazugehörige Blockschaltbild zeigt Abb. 48.



Abb. 48: Blockschaltbild des LIMS-Systems, schwarze durchgezogene Linien: elektrische Signale, schwarz gestrichelte Linien: optische Signale, blaue Linien: Gasflüsse, rote Pfeile: Temperaturkontrolle

In den Laboraufbau ist derzeit noch ein kompakter, blitzlampengepumpter Nd-YAG-Laser (Continuum Minilite II) integriert. Für die kommerzielle Version ist ein noch kompakterer, diodengepumpter Festkörperlaser vorgesehen (Crylas FQSS266). Dessen Energie wird über einen Energiemonitor überwacht. Dies ist notwendig, da die Intensität der IM-Spektren von der Laserenergie abhängt. Die Spektren und die Energie werden über einen Analog-Digital-Wandler digitalisiert und per USB an den Steuerrechner übertragen.

Der eigentliche Gasfluss ist in Abb. 49 noch einmal detaillierter dargestellt. Es gibt praktisch zwei Flüsse, einen Inertgasstrom (Luft) und einen Probengasstrom. Ersterer wird durch ein Aktivkohlefilter gereinigt und durch ein Molekularsieb von Feuchtigkeit befreit. Letzterer transportiert die Gasprobe und dosiert, wenn erforderlich einen Dopant hinzu. Alle Komponenten, die mit dem Gasstrom in Kontakt kommen, werden mit Hilfe eines Temperatur-Controllers thermostatisiert. Die Temperaturen betragen typischerweise 150°C bis 200°C. Durch die hohe Temperatur werden Adsorptionen des Analyten an den Wänden weitgehend vermieden. In der oben links abgebildeten Stellung (Load) des Rotationsventils saugt die Pumpe die gasförmige Probe durch die Probenschleife, so dass ein definiertes Probenvolumen vorhanden ist. In der Stellung Inject des Rotationsventils gelangt der Inhalt der Proben-

schleife in das IMS, wo es analysiert wird. Alternativ steht zur Desorption von festem Probenmaterial ein Thermodesorber zur Verfügung.



Abb. 49: Gasflüsse in der Stellung Load (links) bzw. Inject (rechts) des Rotationsventils

Das endgültige LIMS-System zur Mykotoxindetektion bzw. deren Metaboliten wird wie folgt aussehen (Abb. 50).



Abb. 50: LIMS-System zur Mykotoxindetektion

Gassensorische Analyseverfahren

Airsense Analytics GmbH

Verschiedene Analyseverfahren sind im Vorhaben eingesetzt worden. Im Vorwege ist der Dampfraum (Headspace) über den Proben mittels klassischer Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) untersucht worden. Das Labor-Verfahren ermöglicht einen genauen Überblick über die Art und Konzentration der gasförmigen Verbindungen. Eine schnelle vor-Ort Analyse kann nur mit kleineren portablen Detektoren erfolgen. Hierzu ist das Gassensorenarray PEN3 und der Gasdetektor GDA3 eingesetzt und evaluiert worden. Die eingesetzten Verfahren und Systeme werden in den nächsten Abschnitten beschrieben.

Die gasförmigen Verbindungen aller Proben sind bei allen Verfahren mittels Headspace untersucht worden. Die Proben wurden in der Regel abwechselnd - ohne Unterbrechung - bei Umgebungstemperatur vermessen (Abb. 51).



Abb. 51: Headspace Analyse

GC-MS

Um die Ergebnisse der Sensorarray- bzw. Detektorarraysysteme besser interpretieren zu können, sind vorab GC-MS-Messungen durchgeführt worden. Hierzu ist der Headspace über einem Adsorbens angereichert und mittels Thermodesorption analysiert worden. Die Proben sind bei einem Gasfluss von 300 ml/min auf 150 mg Tenax als Adsorbens angereichert und bei T = 180°C desorbiert worden. Die Thermodesorption erfolgte mittels einer EDU Einheit (Abb. 52). Komplexe Gemische lassen sich mittels einer gaschromatographischen Trennsäule auftrennen und mit einem Massenspektrometer als Detektor nachweisen und identifizieren. Die in den folgenden Seiten abgebildeten GC-MS Trennungen zeigen deutlich, dass sich VOCs (Volatile Organic Compounds) in den Proben befinden.

Die GC-MS Analyse erfolgte mit einem kommerziellen Gaschromatograph-Massenspektrometer (Agilent, GC-6890 MSD-5973).



Abb. 52: Thermodesorptionseinheit der Serie EDU3

Gassensorarray PEN3

Mit Hilfe von Sensorenarrays, also Anordnungen von mehreren einfachen Gassensoren ähnlicher Bauart, ist es möglich, Proben an Hand der von ihnen abgegebenen Gase zu unterscheiden. Die Analyse ist generell vergleichend, so dass immer Unterschiede zwischen einem Standard und abweichenden Proben festgestellt werden. So kann das Gerät zwischen Proben mit unterschiedlichen Qualitätsmerkmalen auf einfache und schnelle Weise unterscheiden (Diskriminierung).

Mit den Systemen werden in erster Linie keine Aussagen über Inhaltsstoffe der Proben gegeben. Ein Standard und eine abweichende Probe werden dem Gerät in einer Trainingsphase "angelernt". Danach ist das Gerät selbständig in der Lage, bei unbekannten Proben eine Zuordnung zu den Klassen oder auch eine Abweichung davon durch eine einfache Messung festzustellen (Identifizierung). In diesen Versuchen wird das Sensorenarray PEN3 eingesetzt (Abb. 53).



Abb.53: Portable Elektronische Nase PEN3

Es verfügt über ein Sensorenarray aus 10 Halbleitergassensoren (Metalloxidsensoren). Die Halbleitergassensoren ändern ihren elektrischen Widerstand bei Anwesenheit von oxidierbaren oder reduzierbaren Gasen. Die Selektivität der Sensoren kann durch das Halbleitermate-

rial (SnO₂, WO₃ oder $Cr_xTi_yO_z$), unterschiedlichen Dotierungen, Elektrodenanordnungen oder Sensortemperaturen beeinflusst werden.

Zu den Besonderheiten des Gerätes zählt ein spezielles Sammelsystem, welches durch eine automatische Kontrolle in der Lage ist, ein Überladen der Sensoren zu verhindern. Zusätzlich, zur Vereinfachung der Messung, kann mit diesem Probennahmesystem im Einlassbereich eine schnellere qualitative und quantitative Analyse durch automatisches Ausgleichen von Konzentrationsunterschieden erreicht werden (Automatic Ranging).

Der Dampfraum wird durch das Analysegerät eigenständig abgesaugt und vermessen. Es ist ein Zyklus von 60 Sekunden Messzeit und 150 Sekunden Spülzeit gewählt worden. Für die Datenaufnahme und Auswertung kam die zugehörige Software WinMuster Version 1.6 zum Einsatz.

IMS basiertes Gasdetektorarray GDA2

Unterschiedliche Proben sind auch mit einem heterogenen Sensorenarray-System, dem GDA2, untersucht worden. Hierzu ist der oben beschriebene Headspace über die interne Pumpe im GDA abgesaugt und analysiert worden.

Das GDA2 besteht aus einer Kombination aus Ionen-Mobilitäts-Spektrometer (IMS), einem Photoionisationsdetektor (PID), einer elektrochemischen Zelle (EZ) und zwei Metall-Oxid-Sensoren (MOS). In Abb. 54 wird das portable System abgebildet. Abb. 55 zeigt die Anordnung der Detektoren im System.

Im IMS werden die gasförmigen Bestandsteile der Luft mittels radioaktiver Strahlung ionisiert und mittels einer Laufzeitmessung in einem elektrischen Feld vermessen. Kleine Moleküle haben in der Regel einen geringeren Stoßquerschnitt in der Luft und gelangen schneller zum Detektor, große Moleküle brauchen länger.



Abb. 54: IMS basierter Gefahrstoffdetektor GDA



Probenahmeverfahren

Vom Projektpartner, dem Leibniz Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V., sind jeweils Proben für die Testreihen zur Verfügung gestellt worden. Für die Analysen sind die Getreideproben in 40 ml-Probenvials überführt worden, welche über Teflon beschichtete Septen abgedichtet waren. Die Probenflaschen wurden für ein paar Stunden bei Raumtemperatur gelagert, damit sich ein stabiler Dampfraum über der Probe bilden konnte.

Je nach Aufgabenstellung sind die Proben unterschiedlich behandelt worden. So sind für die Voruntersuchungen Proben manuell sortiert worden, um z.B. zu klären, ob die Lagerung der Getreideproben im eingefrorenen Zustand einen Einfluss auf das Ergebnis hat, oder um festzustellen, ob Verunreinigungen von anderen Pflanzen einen Einfluss auf die Gaszusammensetzung im Headspace haben. Abb. 56 zeigt die manuelle Sortierung der Getreideproben.



Abb. 56: Manuelle Sortierung der Getreideproben

Nach den Voruntersuchungen an unbelasteten Getreideproben, sind stark belastete Proben untersucht worden. Hierzu sind entweder mit Mykotoxinen kontaminierte Proben vom ATB bezogen worden, oder sterile Proben gezielt beim ATB mit Pilzen infiziert worden. Letztere sind direkt in den 40 ml Fläschchen, welche bei der Headspace-Analyse verwendet wurden, infiziert worden. Die Fläschchen sind bei kontrollierten Bedingungen (Temperatur, Feuchte) und nach definierten Zeiten per Express-Service zur Airsense Analytics GmbH zur Untersuchung transportiert worden.

Es hat sich herausgestellt, dass bei gas dicht verschlossenen Proben nach relativ kurzer Zeit Gärungsprozesse auftreten können, die wiederum die Zusammensetzung in der Gasphase wesentlich verändern können. Die Gärprozesse sind im Wesentlichen bei Weizen beobachtet worden. Ethanol als Marker für den Gärprozess konnte in den Proben nachgewiesen werden. Um die Gärung zu vermeiden, sind die Proben in den Glasfläschchen nicht mehr gasdicht verschlossen worden. Mit dem ATB ist ein neuer atmungsaktiver Verschluss, basierend auf einer porösen Polypropylen-Folie (MicroSac von SACO2, Eke, Belgien), entwickelt worden. Ein Versenden der Proben mit diesen modifizierten Verschlüssen ist jetzt möglich.

Ergebnisse der Grundlagenuntersuchungen

Im Folgenden werden die Ergebnisse bei der Analyse der gasförmigen Verbindungen aus unbelasteten Getreideproben, mit Mykotoxinen belasteten Getreideproben und mit Mykotoxin bildenden Pilzen infizierten Getreideproben dargestellt.

Analyse der VOCs

Leichtflüchtige organische Verbindungen (Volatile Organic Compounds = VOC) werden von biologischen Produkten emittiert, einige davon können von der menschlichen Nase als Geruch registriert werden. Leichtflüchtige Verbindungen, die aus einer mikrobiologischen Aktivität entstehen, werden MVOC (Microbial Volatile Organic Compounds) genannt. Um die Emission von unbelasteten Roggen- und Weizenproben zu untersuchen, sind diese bei unterschiedlichen Bedingungen vermessen worden.

Einfluss von Fremdstoffen

Hierzu sind unbelastete Getreidekörner manuell sortiert worden, so dass drei verschiedene Probenarten untersucht worden sind (Tab. 9):

Tab.	9:	Probenaufbereitung
------	----	--------------------

Probe	Probenzustand
1	belassen (Rohgetreide)
2	sortiert sauber (Getreide ohne Verunreinigungen)
3	aussortierter Abfall (Pflanzenreste)

In den Abb. 57, 58 und 59 sind die Messungen mit den Sensorsignalen der PEN3 dargestellt, um das Antwortverhalten des Sensorenarrays auf die Probengase zu verdeutlichen. Hieran ist zu erkennen, dass die Signale bei Raumtemperatur ausreichend hoch sind, um eine Trennung und statistische Auswertung zu gewährleisten.



Abb. 57: Unbelastete Probe "belassen" (1)



Abb. 58: Unbelastete Probe "sortiert sauber" (2)



Abb. 59: Unbelastete Probe "aussortierter Abfall" (3)

Um die Messverfahren beurteilen zu können, wurden aus den Messungen Daten entnommen und in eine Datenbank (Musterdatei) überführt. Dabei wurden Einzelmessungen vordefinierten Klassen zugeordnet. Die enthaltenen Werte wurden dann mittels Hauptkomponentenanalyse (PCA, Abb. 60) transformiert, um eine zweidimensionale Ansicht zu ermöglichen. Messungen erscheinen hier als Punkte. Unterschiede in den Messergebnissen werden als Abstände deutlich. Dadurch eignet sich die PCA gleichzeitig zur Beurteilung der Trennbarkeit der Probensorten.



Abb. 60: PCA (1. & 2. Hauptachse) der unbelasteten Getreide-Proben

An dieser Grafik ist zu sehen, dass eine Auftrennung der Probensorten erzielt wird. Eine Verunreinigung aus pflanzlichen Resten ist prinzipiell in der Lage, das Muster zu beeinflussen.

Die entstehende Grafik enthält in der ersten Hauptkomponente die maximale in den Datenpunkten gefundene Streuung. Klassenzugehörigkeiten sind für die Anordnung der Punkte nicht von Bedeutung. An den Achsen von Abb. 60 sind die in der jeweiligen Hauptkomponente erzielten Varianzen eingetragen. Eine hohe Varianz bedeutet, dass in der jeweiligen Hauptkomponente ein hoher Anteil der Gesamtstreuung der Punkte gefunden worden ist.

Ein weiteres Verfahren zur Datenreduktion ist die Lineare-Diskriminanz-Analyse (LDA). Sie liefert – ebenso wie die PCA – eine zweidimensionale Punktegrafik (Abb. 61).



Abb. 61: LDA (1. & 2. Hauptachse) der unbelasteten Getreide-Proben

Im Gegensatz zur PCA, benutzt die LDA nicht nur die Streuung sondern auch die Information über die Klassenzugehörigkeit der Trainingsdaten. Leicht einzusehen ist, dass die LDA bessere Unterschiede zwischen den Klassen hervorheben kann – sie zeigt also in der Regel eine verbesserte Auflösung.

Andererseits kann die LDA zur Trennung von Klassen auch Informationen aus den Rohdaten ziehen, die nicht wesentlich mit dem unterschiedlichen chemischen Gemisch zusammenhängen. Daher ist es wichtig, eine ausreichende Punktezahl in die Musterdatei einzustellen, damit wiederholbare Ergebnisse durch die LDA gezeigt werden. Durch die Datenreduktion der PCA und der LDA wird der Unterschied der Proben deutlich aufgezeigt.

Einfluss der Lagerung

Es ist untersucht worden, ob die Lagerung einen Einfluss auf die Getreideproben hat. Hierzu sind Proben bei T = -20° C eingefroren worden und nach dem Auftauen mit Proben verglichen worden, die bei Umgebungstemperatur gelagert wurden.

Hierfür wurde die Probe 1 bei -20°C gelagert und vor Beginn der Messungen auf Raumtemperatur gebracht.

Die Gaszusammensetzung des Headspace wurde während des Erwärmens untersucht. Hierfür wurden 6 Fläschchen mit der Probe 1 bei -20°C gelagert und vor Beginn der Messungen in zeitlichen Abständen (15 min, 20 min, 30 min, 45 min und 60 min) bei Raumtemperatur vermessen. Abb. 62 zeigt eine Überlappung aller Proben, so dass kein Einfluss festzustellen ist.



Abb. 62: PCA (1. & 2. Hauptachse) der Getreide-Proben während der Aufwärmphase

Die Signalunterschiede bei den Proben machen deutlich, dass ein Sensorenarray, auf der Basis von Halbleiter-Gassensoren, Kontaminationen des Getreides durch pflanzliche Reste (z.B. Saat oder Blüten von anderen Pflanzen) detektieren kann.

Positiv ist auch, dass kein wesentlicher Einfluss auf die Art der Lagerung gefunden wurde, d.h. die Getreideproben können zwecks der Vergleichbarkeit eingefroren werden.

Einfluss der Feuchte

Befeuchtete Roggen- und Weizenproben sind in Röhrchen versendet worden. Die Röhrchen sind im ATB mit Filterbeuteln (MicroSac Beutel) verschlossen worden und in einem gekühlten Behälter verschickt worden. Die Befeuchtung der γ -sterilen Weizen- und Roggenproben erfolgte im ATB bei T = 4°C. Bei einer Ausgangsfeuchte von ca. 11% sind Proben mit Feuchten von 11%, 12%, 14%, 16%, 18%, 20% und 25% hergestellt worden. Nach einem Zeitraum von 2 und 6 Tagen sind die Proben mit dem Sensorarray PEN3 vermessen worden. Die folgenden Abb. 63 und 64 zeigen die PCA Analysen der Roggen- bzw. Weizenproben.

In Abb. 63 ist keine Abhängigkeit der Feuchte bei den Roggenproben festzustellen, während in Abb. 64 eine Abhängigkeit tendenziell erkennbar ist (steigende Feuchte von links nach rechts). Die gleichen Proben sind nach weiteren 4 Tagen nochmal untersucht worden.



Abb. 63: PCA-Analyse der Roggenproben mit einem Wassergehalt von 11 - 25%



Abb. 64: PCA-Analyse der Weizenproben mit einem Wassergehalt von 11 - 25%

Nach 6 Tagen ist sowohl bei den Roggen- als auch bei den Weizenproben eine Beeinflussung der Feuchte zu erkennen (Abb. 65 und 66). Bei der Weizenprobe ist eine deutlichere Trennung als vorher zu sehen. Es ist anzunehmen, dass die Ursache der Unterscheidung nicht allein durch den Feuchtegehalt verursacht wird, sondern durch anfängliche Gärungsprozesse oder andere leichtflüchtige Verbindungen die indirekt mit Hilfe der Feuchte in die Gasphase treten.


Abb.65: PCA der Roggenproben (nach 6 Tagen) mit einem Wassergehalt von 11 - 25%



Abb. 66 PCA der Weizenproben (nach 6 Tagen) mit einem Wassergehalt von 11 - 25%

Einfluss der Getreideart

Desweiteren ist untersucht worden, ob eine Unterscheidung von Roggen- und Weizenproben möglich ist. Die nächsten Abbildungen zeigen Analysen der Roggen- und Weizenproben nach 2 Tagen und nach 6 Tagen nach der Befeuchtung.

Wie in Abb. 67 und 68 zu erkennen ist, wird die Unterscheidung zwischen Roggen und Weizen bei Proben mit unterschiedlicher Feuchte schwierig. Erst bei längerer Einwirkung der Feuchte und einem höheren Feuchtegehalt ist Roggen von Weizen zu unterscheiden.



Abb. 67: PCA der Weizen- und Roggenproben (nach 2 Tagen)mit einem Wassergehalt von 11 - 25%



Abb. 68: PCA der Weizen- und Roggenproben (nach 6 Tagen)mit einem Wassergehalt von 11 - 25%

Die Ergebnisse zeigen, dass die Konzentration von gasförmigen Verbindungen im Headspace der Proben sehr gering ist. Damit erhöht sich die Chance MVOCs aus einem Feldpilzoder Schimmelbefall zu erkennen.

Analyse der MVOCs

In ersten Versuchen ist stark belastetes Rohgetreide mit GC-MS und mit einfachen Gassensoren (elektronische Nase PEN3, Gefahrstoffdetektor GDA2) untersucht worden. Hierzu sind Proben vom Projektpartner ATB mit *Fusarium graminearum* und *Fusarium culmorum* kontaminiert worden. Des Weiteren ist der Einfluss der Feuchte (11% r.F. und 21% r.F.) bei einer konstanten Lagertemperatur von T = 20° C während der Infizierung untersucht worden.

GC-MS Analyse

Mittelflüchtige Verbindungen aus dem Headspace unbelasteter und belasteter Getreideproben sind mittels Adsorption auf Tenax und anschließender thermischer Desorption einer GC-MS Analyse unterzogen worden. Einige Identifikationsvorschläge, aus dem einfachen Vergleich der Massenspektren mit der Datenbank, sind in den Graphiken aufgelistet worden. Abb. 69 zeigt eine gaschromatographische Trennung einer unbelasteten Probe.



Abb. 69: GC-MS Untersuchung des Headspaces einer normalen Getreideprobe. Es konnten außer Spuren von Ethylacetat keine weiteren Verbindungen identifiziert werden

Es ist außer einer Spur von Ethylacetat kaum etwas angereichert und desorbiert worden. Abb. 70 zeigt das Bild bei der Analyse der Probe mit *Fusarium graminearum* bei einer Feuchte von 21%. Ein Vergleich der Analyse der Proben die mit *Fusarium culmorum* geimpft worden sind zeigt, dass es kaum Unterschiede zwischen den Hauptverbindungen im Headspace der infizierten Proben gibt. Allerdings scheinen die Konzentrationen der einzelnen Verbindungen unterschiedlich zu sein. In Tab. 10 sind die durch Datenbankvergleich identifizierten Verbindungen aufgelistet.



Abb. 70: GC-MS Untersuchung des Headspaces einer Getreideprobe, infiziert mit *Fusarium graminearum,* 21% Feuchte

Es ist eine Vielzahl von VOCs getrennt worden. Tab. 10 listet die identifizierten Verbindungen nach der Nummerierung im GC-Lauf auf (Abb. 70).

Peak Nr.	Substanzvorschlag	Peak Nr.	Substanzvorschlag
1	Ethanol	8	Propionsäure, Ethylester
2	Aceton (?)	9	Methylbutanol
3	Methylpropanal	10	Methylbutanol
4	Methylpropanal	11	Propionsäure, Methylethylester
5	Ethylacetat	12	Buttersäure, Ethylester
6	3-Methyl-Butanal	13	Buttersäure, Methylethylester
7	2-Methyl-Butanal	14	Buttersäure, Methylethylester

Tab. 10: Liste der nach Datenbankabgleich identifizierten Verbindungen

Analyse mit Gassensorarrays (PEN3)

Die mittels GC-MS untersuchten Proben sind auch mit dem Sensorarraysystem PEN3 vermessen worden. Des Weiteren ist der Einfluss der Feuchte bei der Analyse mit dem Sensorarray ermittelt worden. Die untersuchten Proben sind in Tab. 11 zusammengestellt.

Tab. 11: Probenparameter

Probennr.	Probenparameter
1	F3 11%, 20°C Inkubation V24.04. Fusarium graminearum
2	F4 11%, 20°C Inkubation V26.04. Fusarium culmorum
3	F3 21%, 20°C Inkubation V24.04. Fusarium graminearum
4	F4 21%, 20°C Inkubation V26.04. Fusarium culmorum

Um das Antwortverhalten des Sensorenarrays zu verdeutlichen, werden im Folgenden die Sensorsignale der PEN3 beim Vermessen einer kontaminierten Probe dargestellt (Abb. 71).



Abb. 71: Probe, die mit Fusarium graminearum kontaminiert ist (Probe 1)

Anhand der Messsignale ist deutlich erkennbar, dass bei einem Vergleich mit den Messungen der nicht kontaminierten Proben (Bild 57 oder 58), die kontaminierten Proben wesentlich stärkere Sensorsignale verursachen. Abb. 72 zeigt den Einfluss der Feuchte (durchzogener Pfeil weist von geringer zu hoher Feuchte hin).



Abb. 72: PCA (1. & 2. Hauptachse) der Getreide-Proben





Abb. 73: PCA (1. & 2. Hauptachse) der unbelasteten und den kontaminierten Getreide-Proben

Die Signalunterschiede machen deutlich, dass ein Sensorenarray auf der Basis von Halbleiter-Gassensoren als Messprinzip für die gegebenen Problemstellungen gut einsetzbar sein kann. Die Ergebnisse zeigen, dass die Konzentration von gasförmigen Verbindungen im Headspace der infizierten Proben sehr stark zunehmen kann. VOCs aus einem Pilz- oder Schimmelbefall lassen sich nachweisen.

Einfluss der Verweilzeit der Proben in den Probengefäßen

Getreideproben mit sterilem Getreide sowie auch kontaminierte Getreideproben sind in Behältern verschickt worden, die einen Gasaustausch zwischen den Behältern und der Umgebung ermöglichen (MicroSac-Beutel). Die MicroSac Beutel (von Saco2) gewährleisten einen Gasaustausch bei gleichzeitiger Sterilität.

Neben den sterilen Getreideproben sind auch mit *Fusarium graminearum* (153) beimpfte Getreideproben untersucht worden. Die Bebrütung erfolgte über 5 Tage bei 25°C. Zusätzlich sind natürlich kontaminierte Proben, die mit DON belastet waren, untersucht worden.

Die Proben sind nach Ankunft direkt aus den Beuteln analysiert worden. Zusätzlich sind Proben auch in gasdichten Probenbehälter umgefüllt und nach 4 bzw. 24 Stunden analysiert worden, wobei steriles wie auch mit unterschiedlichen Pilzen inokuliertes Getreide, welche mit *Fusarium graminearum* (153), *Aspergillus niger* (157) und *Penicillium verrucosum* (492) infiziert worden sind (Inkubation bei 25°C für 7 Tage), untersucht worden ist.

Eine Unterscheidung zwischen den Sterilproben und den kontaminierten Proben ist bei einer direkten Analyse der Luft in den Beuteln möglich. Eine bessere Unterscheidung ist möglich, wenn die Proben über einen kurzen Zeitraum in gasdichte Fläschchen überführt werden.

In Abb. 74 und 75 wird der Vergleich zwischen der jeweiligen Sterilprobe und Proben, welche mit *Fusarium graminearum* (153), *Aspergillus niger* (157) und *Penicillium verrucosum* (492)

infiziert worden sind, dargestellt (Inkubation bei 25°C für 7 Tage). Die Proben sind vor der Analyse in Glasbehälter umgefüllt und nach einer Wartezeit von 4 Stunden bei Umgebungstemperaturen vermessen worden.

Die Abb. 74 und 75 zeigen, dass eine Unterscheidung von den Sterilproben unter diesen Bedingungen möglich ist. Die Trennung zwischen den Sterilproben und den kontaminierten Proben gelingt bei Weizen besser als bei Roggen.







Abb. 75: PCA von Roggen-Proben in den Glasfläschchen (4 h) Sterilprobe (rot), *Fusarium graminearum* 153 (grün), *Aspergillus niger* 157 (blau), *Penicillium verruco-sum* 492 (grau)

Der Vergleich der Messung der Weizenproben, die 24 Stunden im geschlossenen Vial gelagert worden sind mit den Proben die nur vier Stunden gelagert worden sind, zeigt, dass eine Unterscheidung nach der längeren Lagerung schwierig wird. Offensichtlich führen Gärungsprozesse im Weizen zu einem Anstieg an leichtflüchtigen Verbindungen, welche die Stoffwechselprodukte der Pilze überlagern.

Interessanterweise verhält sich Roggen anders. Hier wird die Trennung nach einer längeren Lagerzeit im geschlossenen Fläschchen besser.

Einfluss der Pilzgattung:

Um festzustellen, ob unterschiedliche Pilze auf den Getreidesorten zu unterscheiden sind, wurden entsprechende Proben beim ATB vorbereitet. Roggen und Weizen sind mit verschiedenen Pilzgattungen beimpft worden. Die Röhrchen sind mit einem sterilen filterhaltigen Teil eines SACO-Beutels verschlossen worden. Die Beimpfung erfolgte am zweiten Tag nach der Befeuchtung. Die Proben sind ca. 5 Tage nach der Beimpfung vermessen worden.

Folgende Pilzarten sind verwendet worden: *Fusarium culmorum* 33, *Fusarium graminearum* 153, *Aspergillus niger* 157, *Aspergillus versicolor* 10, *Penicillium verrucosum* 492, *Penicillium chrysogenum* 478.84, *Alternaria spec.* 8.

Die Röhrchen sind mit 8 g Weizen bzw. Roggen gefüllt worden. Anschließend erfolgte eine Befeuchtung auf 25%. Nach einer Inkubation bei T = 4°C für 48 h wurden je zwei Röhrchen von jedem Getreide mit den oben aufgelisteten Pilzarten beimpft. Die Inkubation erfolgte bei 25°C. Je zwei Röhrchen sind nicht beimpft worden und dienten als Sterilkontrolle. Abb. 76 und Abb. 77 zeigen die PCA und die entsprechende LDA Analyse der Roggenproben.



Abb. 76: PCA Analyse der Roggenproben nach Inokulation mit unterschiedlichen Schimmelpilzen (Pattern von 8-11 s, normalisiert)

Es fällt auf, dass bei zwei Proben, RoAlt8 (*Alternaria spec.*) und RoFC33 (*Fusarium culmo-rum*) eine Unterscheidung von der Sterilkontrolle (RoSK) nicht oder schwer möglich ist. Alle anderen lassen sich gut von der Sterilkontrolle unterscheiden. Desweiteren fällt auf, dass sich einige der Stoffwechselprodukte der Pilze in den Analysen gruppieren, z.B. Ro492 (*Pe-*

nicillium verrucosum), RoP10 (*Aspergillus versicolor*) und Ro478.84 (*Penicillium chrysogenum*).



Abb. 77: LDA Analyse der Roggenproben nach Inokulation mit unterschiedlichen Schimmelpilzen (Pattern von 8-11 s, normalisiert)

Abb. 78 und 79 zeigen die PCA und die LDA Analyse der entsprechenden Weizenproben. Wie beim Roggen gibt es kaum Unterschiede zwischen der Sterilkontrolle und der WeiAlt8 (*Alternaria spec.*) Probe.

Auch hier fällt auf, dass sich einige der Stoffwechselprodukte der Pilze in den Analysen gruppieren, z.B. WeioP10 (*Aspergillus versicolor*) und Wie478.84 (*Penicillium chrysogenum*), welche auch beim Roggen nicht zu unterscheiden sind.



Abb. 78: PCA Analyse der Weizenproben nach Inokulation mit unterschiedlichen Schimmelpilzen (Pattern von 8-11 s, normalisiert)



Abb. 79: LDA Analyse der Weizenproben nach Inokulation mit unterschiedlichen Schimmelpilzen (Pattern von 8-11 s, normalisiert)

Ein Nachweis von fehlerhaften Getreideproben ist über die Gasphase möglich. Ursachen für die leichtflüchtigen Verbindungen in der Gasphase können Stoffwechselprodukte der Mykotoxinbildner sein oder aber auch Stoffe die bei der Vergärung der Proben auftreten.

Analyse mit einem heterogenen Gassensorarray (GDA)

Neben den weiter oben geschilderten Messungen mit dem Array aus Metalloxidsensoren (elektronische Nase PEN3) sind weiterführende Messungen mit einem Ionenmobilitätsspektrometer (IMS, auf Wasserchemie-Basis), einem PID, Metalloxidsensoren und einer elektrochemischen Zelle (in einem Gerät: GDA) durchgeführt worden. In Abb. 80 werden die Verläufe der Detektorsignale bei der Vermessung der unbelasteten Probe dargestellt.



Abb. 80:Verlauf der Detektorsignale des GDA2 bei Vermessung einer normalen Getreideprobe oben links: positives IMS Spektrum bei Vermessung sauberer Luft oben rechts: Spektrum bei Anwesenheit von leichtflüchtigen Verbindungen vom Getreide

Zusätzlich ist das IMS Spektrum für positive Ionen bei sauberer Luft und bei Vermessung der Probe dargestellt. Aus dem Verlauf ist zu erkennen, dass in erster Linie das IMS (positive Ionen) und die Metalloxidsensoren reagieren. Im IMS Spektrum tauchen zusätzliche Peaks auf, die aber relativ klein sind.

In den Abb. 81 und 82 werden die Detektorsignale bei belasteten Proben gezeigt, d.h. es werden die Proben mit geringer Feuchte und anschließend die mit hoher Feuchte dargestellt (Abb. 83 und 84).



Abb. 81: Verlauf der Detektorsignale des GDA2 bei Vermessung einer belasteten Getreideprobe *Fusarium graminearum*, 11% Feuchte)



Abb. 82: Verlauf der Detektorsignale des GDA2 bei Vermessung einer belasteten Getreideprobe (*Fusarium culmorum*, 11% Feuchte)



Abb. 83: Verlauf der Detektorsignale des GDA2 bei Vermessung einer belasteten Getreideprobe (*Fusarium graminearum*, 21% Feuchte)



Abb. 84: Verlauf der Detektorsignale des GDA2 bei Vermessung einer belasteten Getreideprobe (*Fusarium culmorum*, 21% Feuchte)

Aus dem Verlauf der Detektorsignale ist deutlich zu erkennen, dass es Unterschiede im Vergleich zu den Messungen der normalen Getreideprobe gibt. Eine genauere Untersuchung der nicht belasteten Weizen- und Roggenproben zeigt, dass Unterschiede im IMS Spektrum auftreten. Bei den Weizen Proben (Steril-Proben) sind zusätzliche Peaks im Spektrum aufgetreten (im negativen bei K0 =-1,76...1,77, im positiven bei K0 = +1,75...+1,76 und bei K0=+1,68). Beim Roggen gibt es einen Peak bei K0=+1,95..1,96, der nicht beim Weizen auftritt. Somit lässt sich Weizen von Roggen unterscheiden. Abb. 85 und 86 zeigen die IMS-Spektren von Weizen und Roggen.



Abb. 85: IMS Spektrum von Weizen (Sterilprobe, Fläschchen) Spektrum links: positive Ionen, Spektrum rechts: negative Ionen * Peaks, die zum Luftspektrum gehören



Abb. 86: IMS Spektrum von Roggen (Sterilprobe, Fläschchen) Spektrum links: positive Ionen, Spektrum rechts: negative Ionen * Peaks, die zum Luftspektrum gehören

Bei den mit Pilzen infizierten Proben sind Änderungen im Spektrum aufgefallen. Bei Weizen mit *Fusarium graminearum* (153) ist ein erhöhter Peak bei K0=-2,17 aufgetreten. Dieser Peak ist auch bei mit *Fusarium graminearum* (153) infiziertem Roggen erhöht aufgetreten.

Bei Weizen mit *Aspergillus niger* (157) tritt ein erhöhter Peak bei K0=-2,17 auf, zusätzlich erscheint ein Peak bei K0=+1,95...+1,96.

Bei Roggen mit Aspergillus niger (157) ist der Peak bei K0=-2,17 erhöht.

Bei Weizen mit *Penicillium verrucosum* (492) ist auch der Peak bei K0=-2,17 erhöht, allerdings treten noch zusätzliche Peaks bei K0=+1,16...+1,17 und bei K0=+1,40...+1,41 auf.

Bei Roggen mit *Penicillium verrucosum* (492) ist das Bild ähnlich, ein erhöhter Peak bei K0 = -2,17 und zusätzliche Peaks bei K0 = +1,16...+1,17 und bei K0 = +1,40...+1,41 sind zu beobachten.

Infizierte Proben lassen sich von nicht infizierten Proben unterscheiden. Es fällt auf, dass insbesondere das *Penicillium verrucosum* sowohl bei Roggen und Weizen sehr ähnliche Spektren erzeugt hat. Abb. 87 zeigt die Spektren bei der Vermessung einer mit *Penicillium verrucosum* infizierten Weizen-Probe.



Abb. 87: IMS Spektrum von Weizen, kontaminiert mit Penicilium verrucosum

Analyse der Mykotoxine

Die vorherigen Ergebnisse zeigen, dass sowohl mit dem Sensorarray aus Metalloxydsensoren, sowie mit dem IMS ein indirekter Nachweis von mykotoxinbildenden Organismen über deren Stoffwechselwirkung möglich ist. Der direkte Nachweis der Toxine, ist allerdings nicht gelungen. Somit ist bisher nur die Aktivität von Pilzen nachgewiesen worden, aber nicht die der mykotoxinkontaminierten Proben. Im Folgenden sind Proben vom Projektpartner ATB bezogen worden, welche im Gegensatz zu den bisher beschriebenen Proben nicht nachträglich mit Pilzen kontaminiert worden sind. Es handelt sich um Proben, welche teilweise mit Mykotoxinen belastet sind, die aber nicht mehr biologisch aktiv sind, d.h. dass keine Stoffwechselprodukte (VOCs) mehr vorhanden sind. Es sind Messungen mit einem homogenen Sensorenarray aus Metalloxid-Sensoren (elektronische Nase PEN3) sowie mit dem heterogenen Detektorenarray (GDA2) durchgeführt worden.

Analyse mit Gassensorarrays (PEN3)

Eine Auswahl an folgenden mit Fusarium kontaminierten Weizen-Proben aus dem IGV Nuthetal wurde untersucht (Tab. 12).

Probe	DON [µg/kg] Originalsubstanz	DON [µg/kg] 14% Feuchte	DON [µg/kg] i.T.
038/99	< 50	< 50	< 50
205/57	1.193	1.191	1.385
221/35	n.n.	n.n.	n.n.
253/78A	33.832	32.914	38.272
253/78B	10.587	10.380	12.070
401/22	7.334	7.063	8.213

Tab. 12: Untersuchte Weizenproben

Durch die Datenreduktion der PCA (Abb. 88) wird der Unterschied der Proben aufgezeigt. Abb. 89 zeigt den gleichen Probensatz nach einer Analyse mit der LDA.



Abb. 88: PCA (1 & 2. Hauptachse) der Fusarium-Proben (Tab. 12)



Abb. 89: LDA (1 & 2. Hauptachse) der Fusarium-Proben (Tab. 12)

Bei genauer Betrachtung der Abbildungen ist zu erkennen, dass eine Trennung bzw. ein Verlauf aufgrund der DON-Konzentration eher schlecht auszumachen ist.

Eine weitere Untersuchung an folgenden kontaminierten Weizen-Proben des Erntejahres 2006 (Herkunft ZALF), welche zwischendurch getrocknet worden sind, zeigt das Problem etwas deutlicher. In Tab. 13 sind die mittels ELISA Tests ermittelten Mykotoxin-konzentrationen aufgelistet.

Probe	Datum Eingang	Weizen- sorte	Zea-Gehalt µg/ kg	Don-Gehalt µg/ kg
9	19.06.2007	Elvis	< NWG	1884,4
13	19.06.2007	Elvis	< NWG	711,9
19	19.06.2007	Tommi	< NWG	< NWG
34	19.06.2007	Akteur	< NWG	< NWG
49	19.06.2007	Hybnos	< NWG	< NWG
98	19.06.2007	Bussard	< NWG	1771,9
100	19.06.2007	Bussard	< NWG	737,8
117	19.06.2007	Akteur	< NWG	643,8

Tab. 13: Mykotoxinkonzentrationen der untersuchten Weizenproben

Analog zu den weiter oben beschriebenen Verfahren sind die Proben mittels Headspace-Verfahren mit dem Sensorarraysystem analysiert worden (Abb. 90).



Abb. 90: PCA (1. & 2. Hauptachse) der mit Mykotoxinen belasteten Weizen-Proben

Eine Betrachtung der PCA Analyse in Abb. 90 zeigt, dass auch hier kein Zusammenhang zwischen der Konzentration des Mykotoxins DON und der Position in der PCA zu erkennen ist.

Eine weitere Analyse der Daten erfolgt über einen PLS-Algorithmus (Partial Least Squares), welcher eine Korrelation zwischen den Sensorsignalen und den quantitativen Angaben zu berechnen versucht. Bei der PLS wird ein Messwert durch ein zuvor trainiertes Modell abgeschätzt und eine quantitative Größe für eine Variable (Deskriptor oder Merkmal) berechnet. Bei der Variablen kann es sich um jede beliebige Größe handeln, sofern diese quantisierbar in einem quasilinearen Zusammenhang mit den Sensorsignalen steht.

Es gibt unterschiedliche Möglichkeiten von quantitativen Variablen. Sie können je nach Anwendung frei definiert werden. Hier ist es die Konzentration des DON in der Probe. Genutzt wird die PLS-Vorhersage immer bei Anwendungen, in denen die Sensorsignale mit einer quantitativen Angabe korreliert werden sollen und dementsprechend bestimmte quantitative Merkmale mit den Musterdaten zu verknüpfen sind (Abb. 91).



Abb. 91:PLS der Weizen-Probe "100"

Die PLS-Vorhersage unterscheidet sich von den anderen Auswertungen dadurch, dass sie quantitative Werte für die in der Musterdatei enthaltenen PLS-Merkmale berechnet und ausgibt. Sie ist daher kein Klassifikator der eine Entscheidung herbeiführt, sondern eher größenmäßige Angaben berechnet. Eine Bewertung der Daten ist in Tab.14 dargestellt. Der aktuelle Wert wird mit dem vorhergesagten Wert verglichen.

Probe	Datum Eingang	Sorte	Don-Gehalt µg/ kg	Prognose DON-Gehalt μg/ kg
9	19.06.2007	Elvis	1884,4	1843
13	19.06.2007	Elvis	711,9	173
19	19.06.2007	Tommi	< NWG*	322
34	19.06.2007	Akteur	< NWG	280
49	19.06.2007	Hybnos	< NWG	202
98	19.06.2007	Bussard	1771,9	1322
100	19.06.2007	Bussard	737,8	933
117	19.06.2007	Akteur	643,8	798

Tab. 14: PLS-Vorhersage für den DON-Gehalt von Weizenproben

* Nachweisgrenzen im ELISA-Test: DON: 200 µg/kg

Die Daten zeigen, dass eine Prognose mit dem System nicht zuverlässig möglich ist. Die Ursache liegt daran, dass die Toxine mit dem System nicht direkt erfasst werden.

Die Ergebnisse zeigen, dass gasförmige Verbindungen im Headspace der Proben vorhanden sind, allerdings ist keine Korrelation mit der Konzentration der Mykotoxine zu erkennen. VOCs aus einem Pilz- oder Schimmelbefall sind im Gegensatz zu vorherigen Messungen nicht nachgewiesen worden. Mit dem System sind toxisch hoch belastete Proben nicht detektierbar, da nur ein indirekter Nachweis über die Stoffwechselprodukte der Mykotoxin bildenden Pilze möglich ist. Sind diese Pilze nicht mehr biologisch aktiv, bleiben die Mykotoxine aber trotzdem auf den Proben.

Analyse mit dem heterogenen Gasdetektorarray (GDA2)

Mit dem Ionenmobilitätsspektrometer ist versucht worden, die Mykotoxine direkt nachzuweisen. Wegen des niedrigen Dampfdruckes der Toxine ist eine Thermodesorptionseinheit für das IMS aufgebaut worden. Mykotoxine sind in Form eines kommerziellen Standards auf einem Metallgewebe appliziert worden. Das Gewebe ist thermisch bis auf T = 240°C erwärmt worden und die Gasphase mit dem Ionenmobilitätspektrometer im GDA vermessen worden. Der Einlass in das IMS erfolgt über ein Membraneinlasssystem, welches für diese Messungen auf T = 110°C erwärmt wurde.

Abb. 92 zeigt das Ionenmobilitätsspektrum von 60 ng DON (applizierte Absolutmenge). Hierzu ist eine wässrige Kalibrierflüssigkeit (10 μ l, 6 ppm, Deoxynivalenol [DON]) auf ein Metallgewebe appliziert worden und nachträglich mittels thermischer Desorption bei T = 200°C in die Gasphase überführt worden.



Abb. 92: IMS Spektrum von Deoxynivalenol (60 ng bei T = 200°C desorbiert) Spektrum links: positive Ionen, Spektrum rechts: negative Ionen * Peaks, die zum Luftspektrum gehören

Es ist ein deutliches und charakteristisches Spektrum zu erkennen. Die Nachweisgrenze dieses Verfahrens liegt bei 10 ng, was in der Praxis eine extrem hohe Konzentration darstellt. Der Grenzwert für DON liegt z.Z. bei 1250 µg/kg (ppb), d.h. man müsste ca. 10 mg Getreide thermisch desorbieren, um im Bereich des Grenzwertes messen zu können.

Bei einer thermischen Desorption des Getreides ist das charakteristische Spektrum nicht wieder gefunden worden, da bei den hohen Temperaturen auch andere Bestandteile des Getreides in die Gasphase überführt werden, so dass die Selektivität des Verfahrens nicht ausreicht, um die Toxine direkt nachzuweisen.

Mehrere Toxine sind in relativ hohen Konzentrationen vermessen worden. Ein eindeutiger Nachweis der Moleküle bzw. deren Fragmente, ist nicht immer gelungen. Sehr wahrscheinlich ist die Diffusionsrate durch die Membran für die großen Moleküle zu gering.

Zusammenfassung

Im Rahmen des Forschungsvorhabens wurde das Potenzial von ausgewählten optischbasierten **spektroskopischen Methoden** für die in-situ bzw. in-line Detektion von Pilzen sowie Mykotoxinen in Getreide(produkten) untersucht. Es wurden Absorptions- und Reflexionsmethoden einerseits und Fluoreszenztechniken andererseits eingesetzt. Es wurde ein "bottom-up" Ansatz verfolgt. Die spektroskopischen Methoden wurden dabei auf Proben unterschiedlicher Komplexität angewandt - beginnend mit der Untersuchung von reinen Mykotoxinen in Lösung über künstlich mit verschiedenen Mykotoxinen kontaminierten Getreideproben bis hin zu mit Pilzen befallenem Getreide als Proben höchster Komplexität.

In den Messungen zeigte sich, dass durch die Wahl der Messbedingungen (besonders für den Fall von fluoreszenzbasierter Techniken) im Einzelfall ein qualitativer und quantitativer Nachweis verschiedener Mykotoxine möglich ist. Allerdings sind die Interferenzen durch die komplexen Matrices erheblich, so dass ein alleiniger Nachweis von Mykotoxinen bzw. Pilzen durch fluoreszenzbasierte Techniken eingeschränkt ist. Ähnliches gilt für die Untersuchungen mittels Reflexion bzw. Absorption. Erst die Kombination mit chemometrischen Datenaufbereitungsschritten erlaubte eine Unterscheidung z.B. von befallenen und nicht-befallenen Körnern.

Für spezielle Anwendungsfelder wurden innovative spektroskopische bzw. spektrometrische Methoden getestet, speziell die Zwei-Photonen-Induzierte Fluoreszenz (2PIF) und die laserbasierte Ionenmobilitätsspektrometrie. Durch 2PIF werden u.a. Signalbeiträge, die von intrinsischen Komponenten der Matrix herrühren, wirkungsvoll unterdrückt. 2PIF wurde für die direkte Detektion von Mykotoxinen in alkoholischen Getränken charakterisiert. Es konnte gezeigt werden, dass Mykotoxine wie das Aflatoxin B1 und Ochratoxin A potentiell über 2PIF direkt in Bier und Wein nachgewiesen werden können.

Aus den im Forschungsvorhaben durchgeführten Untersuchungen kann gefolgert werden, dass:

- die Detektion von Mykotoxinen bzw. Pilzbefall in Realproben nur durch die Kombination verschiedener optischer Methoden <u>und</u> chemometrischer Verfahren möglich sein wird,
- ii) in verschiedenen Getreideprodukten (z.B. Bier) einzelne Mykotoxine, wenn entsprechende experimentelle Parameter optimiert sind (z.B. Anregungs- und Emissionwellenlänge im Falle von Fluoreszenzmessungen), separationsfrei empfindlich nachzuweisen sind und
- iii) innovative optische Verfahren z.B. 2PIF vielversprechend für eine direkte Analytik von Mykotoxinen in komplexen Matrices sind. Allerdings sind diese spektroskopischen Techniken z.Z. nicht für einen Einsatz im Feld geeignet und momentan auf hochveredelte Produkte (z.B. Bier oder Wein) beschränkt, da hier die hohen Betriebskosten durch die entsprechenden Produktgewinnmargen ausgeglichen werden könnten.

Der Schwerpunkt der Arbeiten der Fa. Optimare Analytik GMBH & CO.KG lag lange auf rein optischen Verfahren zur Mykotoxin-Detektion, vorrangig der Fluoreszenzspektroskopie. Aufgrund früherer Arbeiten war bekannt, dass das messbare Fluoreszenzsignal einer Probe nicht nur vom Analyten sondern auch von der Absorption der Bestandteile der Probenmatrix abhängt. Daher wurden diese Abhängigkeiten vertieft theoretisch untersucht und Methoden entwickelt, diese Matrixeffekte aus dem Fluoreszenzsignal herauszurechnen. Die Wirksamkeit der entwickelten Methoden konnte mit Hilfe von Monte-Carlo-Simulationen der Lichtausbreitung in der Probe überprüft und bestätigt werden.

Die Vielfältigkeit der Schimmelpilze, der Mykotoxine und des Probenmaterials insbesondere im Gemisch führt zu schwer interpretierbaren Fluoreszenz- und Reflektionsspektren. Dies macht daher eine eindeutige Identifizierung von belastetem Getreide auf Basis der Fluoreszenzspektren alleine (bzw. in Kombination mit einer Reflektionsmessung) schwierig, sofern – zur Begrenzung des apparativen Aufwandes und damit des Gerätepreises – nur wenige Anregungs- bzw. Emissionswellenlängen eingesetzt werden können.

Die Firma hat sich daher entschieden, eine alternative Nachweistechnik anzuwenden, die Laser-Ionenmobilitätsspektrometrie. Durch die Anwendung indirekter Ionisationsmethoden wie Protonentransferreaktionen (PTR) und Komplexbildungsreaktionen (KBR) können mit Hilfe der Analysetechnik LIMS viele bedeutende Metaboliten von Mykotoxinen im geringen ppb-Konzentrationsbereich (10 ppb) nachgewiesen werden, was für die geplante Anwendung genügen sollte. Direkte Laserionisation hingegen ist zu ineffizient und führt zu komplexen IM-Spektren auf Grund von Fragmentierung der Molekülionen. Die indirekten Ionisationsmethoden beinhalten die effiziente 1+1-REMPI von aromatischen Dopants und nachfolgende Ionen-Molekül-Reaktionen (PTR und KBR), die zu charakteristischen Produktionen der MVOC führen.

Darauf aufbauend wurde ein Konzept für ein kommerzielles LIMS-System entwickelt und teilweise bereits umgesetzt. Die Fertigstellung wird jedoch erst nach Projektende erfolgen.

Im Bereich der **Gassensoren** sind verschiedene Metalloxidsensoren, ein Photoionisationsdetektor, eine elektrochemische Zelle und ein Ionenmobilitätsspektrometer zum Einsatz gekommen.

Unbelastete Getreidesorten, solche die mit mykotoxinbildenden Pilzen infiziert worden sind, sowie mit Mykotoxinen belastete Getreidesorten sind vom ATB zur Verfügung gestellt worden. Um Verfälschungen der Proben zu vermeiden, ist für den Transport der biologisch aktiven Proben ein neuer Transportbehälter entwickelt worden.

Der Gasraum über den Proben (Headspace) ist mit den verschiedenen Sensoren vermessen worden. Metalloxidsensoren und das Ionenmobilitätsspektrometer sind gut geeignet, um die gasförmigen Verbindungen im Headspace nachzuweisen.

Über die Stoffwechselprodukte der Pilze können infizierte Getreideproben von nicht infizierten Proben innerhalb von Sekunden unterschieden werden. Eine Korrelation mit dem Gehalt an Mykotoxinen ist über den indirekten Nachweis der Stoffwechselprodukte der Pilze nicht gelungen. Biologisch nicht mehr aktive Proben, z.B. getrocknete Getreideproben, die mit Mykotoxinen kontaminiert waren, konnten mit dem Verfahren nicht detektiert werden. Ein direkter Nachweis der Mykotoxine mittels einer Thermodesorption der Proben und einer nachfolgenden Analyse mit dem IMS ist im Bereich der gesetzlichen Grenzwerte für Mykotoxine nicht gelungen.

II.2. Voraussichtlicher Nutzen, Verwertbarkeit der Ergebnisse

Die neuen Verfahren, bei denen Detektoren bzw. Sensorenarrays zum Einsatz kommen, bieten die Möglichkeit, kontinuierlich Gasproben zu untersuchen. Nach entsprechenden Voruntersuchungen lassen sich mit den Systemen auch die leichtflüchtigen organischen Verbindungen aus mikrobiologischem Ursprung (MVOC) nachweisen. Insbesondere bei Umgebungen wo über längere Zeiträume gemessen werden muss, ist eine entsprechende Sensortechnik von Interesse.

Mit den im Projekt entwickelten Messverfahren lassen sich unbelastete Getreideproben von Getreideproben, welche mit Mykotoxin bildenden Pilzen infiziert sind, schnell trennen. Die Verfahren sind allerdings nicht geeignet die Konzentration der Mykotoxine in den Proben zu bestimmen.

Die Erkennung und Aussonderung belasteter Partien würde dem Landwirt bei Verwendung des Getreides im eigenen Betrieb eine qualitätsgerechte Verfütterung und damit den Erhalt der Gesundheit und Leistungsfähigkeit der Tierbestände garantieren.

Von Tieren stammende Lebensmittel könnten qualitätsgerecht erzeugt werden. Ein Übergang (carry over) von Toxinen aus dem Futter über das Tier in Lebensmittel wäre stark eingeschränkt. Betreiber von Getreidemühlen und getreideverarbeitenden Betrieben im Lebensund Futtermittelbereich könnten den Sensor in die Qualitätsprüfung der Rohware mit einbeziehen und sichere, qualitätsgerechte Produkte erzeugen. Eine gesonderte Verwertung mykotoxinbelasteter Getreidepartien wäre z.B. in Biogasanlagen möglich, denn während der Biomethanisierung kommt es zu einer Detoxifikation der Mykotoxine (experimentell belegt für DON) und so kann verhindert werden, dass sich Mykotoxine bei der Gärrestausbringung im Boden anreichern. Eine Verringerung der Belastung von Getreide mit Schimmelpilzen und Mykotoxinen führt zu einer Minimierung der Gesundheitsgefährdung von Tieren und Menschen sowie zu geringeren wirtschaftlichen Verlusten.

Die Messungen mit dem Ionenmobilitätsspektrometer zeigen, dass eine direkte Detektion der Mykotoxine möglich ist. Für einen praxisrelevanten Einsatz muss aber die Selektivität und die Nachweisgrenze verbessert werden. Beides könnte durch eine Weiterentwicklung der Probenahmeverfahren und erheblichen Modifikationen des Ionenmobilitätsspektrometers (höhere Temperaturen, membranloser Einlass) möglich sein.

Das Vorhaben hat bei Optimare Analytik GmbH & Co. KG dazu beigetragen, das Anwendungsfeld für LIMS auf den Bereich Schimmelpilz-Metaboliten zu erweitern und somit den potentiellen Kundenkreis zu vergrößern. Das weiterentwickelte Messsystem soll in Zukunft für die Schimmelpilzanalytik vermarktet werden, weitere Anwendungsbereich befinden sich in der Erprobung. Das Vorhaben hat letztlich dazu beigetragen, ein weiteres Standbein von Optimare Analytik GmbH & Co. KG zu stärken.

II.3. Fortschritte von anderen Stellen auf dem Gebiet des Vorhabens

Während des Vorhabens ist eine Dissertation veröffentlicht worden, bei der die leichtflüchtigen organischen Verbindungen zur Vorhersage der Mykotoxine in den Proben herangezogen worden sind. Die Dissertation von Kristian Karlshøj (2007), welche im Rahmen eines staatlichen Forschungsprojektes am dänischen Center for Microbial Biotechnology erstellt wurde, zeigt, dass, anhand der Profile der flüchtigen Stoffwechselprodukte eine Kontamination mit den Spezies der Gattungen *Penicillium, Aspergillus, Fusarium* und *Alternaria* nachzuweisen ist und bestätigt um Wesentlichen die Ergebnisse, die hier erzielt worden sind.

Weitere Fortschritte sind dem Zuwendungsempfänger auf dem Gebiet von dritter Seite nicht bekannt.

II.4. Erfolgte und geplante Veröffentlichung der Ergebnisse

Erfolgt:

Zeitschriftenartikel

Idler, C. (2010): Sensortechnik-Mykotoxine online analysieren. LaborPraxis, 34, März, S. 34-35.

- Rasch, C.; Böttcher, M.; Kumke, M. (2010): Determination of Aflatoxin B₁ in alcoholic beverages: Comparison of one- and two-photon-induced fluorescence; Analytical and Bioanalytical Chemistry, 397(1), 87-92.
- Rasch, C.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. (2008): Mykotoxine in Getreide spektroskopisch erfassen; Nachrichten aus der Chemie, *56*(11), 1154-1158.
- Rasch, C.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. (2010): Sensor technology for the identification of mycotoxin producing fungi in the processing of grains; Food and Bioprocess Technology: An International Journal, DOI: 10.1007/s11947-010-0364-y.
- Steinbrück, D.; Rasch, C.; Kumke, M. (2008): Photophysics of Ochratoxin A in Aqueous Solution; Zeitschrift für Naturforschung, *63b*, 1321-1326.

<u>Vorträge</u>

- Ditz, M.; Idler, C.; Rasch, C.; Kumke, M.; Walte, A. "Exposure of corn with mould and mycotoxins detection by sensor technology", 8th International Conference Mycotoxins and moulds, Bydgoszcz (PL), 25. bis 27. Juni 2008.
- Ditz, M.; Idler, C.; Rasch, C.; Kumke, M. "Indicators and sensor technology for the identification of mycotoxine producing fungi in the processing of grain", *31. Mykotoxin-Workshop*, Münster, 15. bis 17. Juni 2009.
- Rasch, C. "Non-invasive determination of mycotoxin producing fungis on grains", *11. Frühjahrssymposium des Jungchemikerforums der GDCh*, Essen, 11. bis 14. März 2009.
- Rasch, C; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. "Spectroscopic identification of fungis and mycotoxins on grains", *30. Mykotoxin-Workshop*, Utrecht (NL), 28. bis 30. April 2008.
- Rasch, C.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. "Photophysikalischer Nachweis von Mykotoxinen am Beispiel von Ochratoxin A (OTA) - und Schimmelpilzen auf Getreide", *ANAKON 2009*, Berlin, 17. bis 20. März 2009.
- Rasch, C.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. "Sensor technology for the identification of mycotoxin producing fungi in the processing of wheat grain", 5th International Technical Symposium on Food Processing, Monitoring Technology in Bioprocesses and Food Quality Management, Potsdam, 31. August bis 02. September 2009.

Posterbeiträge

- Idler, C.; Jonitz, A.; Kumke, M.; Rasch, C. "Indicators and sensor technology for the identification of mycotoxin producing fungi in the processing of grain", 29. Mykotoxin-Workshop, Stuttgart-Fellbach, 13. bis 16. Mai 2007.
- Idler, C.; Rasch, C.; Ditz, M.; Kumke, M. "Sensor technology for the identification of mycotoxins and fungi in the processing of grain - first results", *30. Mykotoxin-Workshop*, Utrecht (NL), 28. bis 30. April 2008.

- Idler, C.; Ditz, M.; Rasch, C.; Kumke, M.; Walte, A. "Sensoren zur Detektion von Schimmelpilzen auf Getreide", *11. Fachsymposium der VAAM-Fachgruppe Lebensmittelmikrobiologie*, Wildbad Kreuth, 22. bis 24. Juni 2009.
- Idler, C.; Walte, A.; Ditz, M.; Plessing-Menze, A.; Briese, K. "Detection of mould and mycotoxine on grain using a gas Sensor Array", *32. Mykotoxin-Workshop,* Lyngby, Dänemark, 14. bis 16. Juni 2010.
- Münchmeyer, W., Walte, A.; Ungetüm, B, Idler, C.; Ditz, M. "Detection of molds on grain using a gas sensor array (Electronic nose)", *The Pittsburgh Conference on Analytical Chemistry and Applied Spectroscopy Pittcon 2010*, 1. bis 4. März 2010 Pittsburgh, Florida, USA, 1690-6P, Book of Abstracts Pittcon 2010, Orlando (USA) 2010.
- Rasch, C.; Böttcher, M.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. "Spectroscopic methods for the analysis of Aflatoxins in alcoholic beverages and foodstuff", *GDCh-Wissenschaftsforum Chemie 2009*, Frankfurt / Main, 30. August bis 02. September 2009.
- Rasch, C.; Böttcher, M.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. "Spectroscopic proof of Aflatoxin B1 in alcoholic beverages and foodstuff", *Euroanalysis 2009*, Innsbruck (AT), 06. bis 10. September 2009.
- Rasch, C.; Böttcher, M.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H-G. "Two-photon-induced fluorescence for the determination of Aflatoxin B1 in alcoholic beverages", *Laser Optics Berlin*, Studententag, 23. März 2010.
- Rasch, C.; Ditz, M.; Idler, C.; Kumke, M. "Non-invasive detection of selected mycotoxin producing fungis on grains", 4th European Young Investigators Conference, Słubice (PL), 18. bis 21. Juni 2009.
- Rasch, C.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. "Spectroscopic identification of mycotoxins in cereals", 2. interdisziplinäre Doktorandentagung der GDCh, Fachgruppe Analytische Chemie:, Arbeitskreise Chemometrik und Labordatenverarbeitung, Chemo- und Biosensoren, Prozessanalytik, Qualitätsmanagement und Elektroanalytische Chemie, Attendorn, 10. bis 12. Februar 2008.
- Rasch, C.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. "New spectroscopic insights for the identification of mycotoxins in cereals", *10. Frühjahrssymposium des Jungchemikerforums der GDCh*, Rostock, 26. bis 29. März 2008.
- Rasch, C.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. "Spectroscopic identification of mycotoxins in cereals", *Europact 2008 - 1. European Conference on Process Analytics and Control Technology*, Frankfurt / Main, 22. bis 25. April 2008.
- Rasch, C.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. "Spectroscopic identification of mycotoxins in cereals", *Doktorandensymposium der Potsdam Graduate School*, Potsdam, 09. Dezember 2008.
- Rasch, C.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. "Schimmelpilzgifte durch Licht erfassen", 2. Doktorandensymposium der Potsdam Graduate School, Potsdam, 22. September 2009.
- Rasch, C.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. "Mykotoxinbildner auf Getreide spektroskopisch erfassen", 5. Kolloquium des Arbeitskreises Prozessanalytik in der GDCh-Fachgruppe Analytische Chemie und in der DECHEMA, Göttingen, 30. November bis 01. Dezember 2009.
- Rasch, C.; Steinbrück, D.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. "Sensor technology for the identification of mycotoxins in cereals", *8. Dresdner Sensor-Symposium*, Dresden, 10. bis 12. Dezember 2007.
- Rasch, C.; Steinbrück, D.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. "Spectroscopic properties of Ochratoxin A and B", *30. Mykotoxin-Workshop*, Utrecht (NL), 28. bis 30. April 2008.

Sonstiges

- Böttcher, M. (2009): "Photophysikalische Eigenschaften von Aflatoxin B1 in verschiedenen Lösungsmitteln und Nachweis des Mykotoxins in Weißwein", Bachelorarbeit, Potsdam.
- Steinbrück, D. (2008): "Photophysik von Mykotoxinen in komplexen Matrizes: Am Beispiel Ochratoxin A auf Mehl und Getreidekörnern", Diplomarbeit, Potsdam

Geplant

- Idler, C.; Dammer, K.-H.; Mellmann, J.; Hassenberg, K. "Sensoren zur Erkennung und Vermeidung von Schimmelpilzen und Mykotoxinen in der Getreidekette", Mühle & Mischfutter (Zeitschriftenartikel).
- Idler, C.; Walte, A.; Ditz, M. "Gassensor arrays for the detection of mould on grain method and first results", Mycotoxin Research (Zeitschriftenartikel).
- Rasch, C.; Böttcher, M.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H-G. "Two-photon-induced fluorescence for the determination of Aflatoxin B1 in alcoholic beverages", 32. Mykotoxin-Workshop, Kopenhagen (DK), 14. bis 16. Juni 2010 (Poster).
- Rasch, C.; Ditz, M.; Idler, C.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. "The use of spectroscopic methods for the detection of mycotoxin producing fungi – results of subproject 1.2 of "ProSenso.net²", 32. *Mykotoxin-Workshop*, Kopenhagen (DK), 14. bis 16. Juni 2010 (Vortrag).

Literatur

Atkins, P.W. (2001): Physical Chemistry. Oxford University Press.

- Bischoff, M. (1998): Mykotoxine in Getreide unter Berücksichtigung der Ernte 1998. Lufa der Landwirtschaftskammer Weser-Ems.
- Chu, F.S. (1974): Studies on Ochratoxins. CRC Critical Reviews in Toxicology, 2, S. 499-523.
- Dall'Asta, C.; Ingletto, G.; Corradini, R.; Galaverna, G.; Marchelli, R. (2003): Fluorescence enhancement of aflatoxins using native and substituted cyclodextrins. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, *45*, S. 257-263.
- Danzer, K. (2001): Chemometrik: Grundlagen und Anwendungen. Springer, Berlin.
- Domsch, K.W. [Hersg.] (1998): Lexikon der Mykologie. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York.
- Fraser, D.J.J.; Griffiths, P.R. (1990): Effect of scattering coefficient on diffuse reflectance infraredspectra. Applied Spectroscopy, 44(2), S. 193-199.
- Fröhlich, D. (2006): 2-Photonenspektroskopie. Physik in unserer Zeit, 6(2), S. 47-51.
- Göppert-Mayer, M. (1931): Über Elementarakte mit zwei Quantensprüngen. Annalen der Physik, 9, S. 275.
- Hashemi, J.; Alizadeh, N. (2009): Investigation of solvent effect and cyclodextrins on fluorescence properties of ochratoxin A. Spectrochimica Acta Part A, 73, S. 121-126.
- Hope, R.; Aldred, D.; Magan, N. (2005): Comparison of environmental profiles for growth and deoxynivalenol production by *Fusarium culmorum* and *F. graminearum* on wheat grain. Letters in Applied Microbiology, 40, 295–300.
- IfEW Institut für Ernährungswissenschaften der Universität Wien: Expertengutachten zur Lebensmittelsicherheit – *Lebensmittelbestrahlung* -. Wien 1999.
- Il'ichev, Y.V.; Perry, J.L.; Manderville, R.A.; Chignell, C.F.; Simon, J.D. (2001): The pH-dependent primary photoreactions of Ochratoxin A. Journal of Physical Chemistry B, 105, S. 11369-11376.
- Karlshøj, K. (2007): Prediction of Mycotoxin Production by Detection of Volatile Metabolites. PhD Thesis, Bio Centrum-DTU, Technical University of Denmark, April 2007.
- Kasha, M. (1950): Characterization of electronic transitions in complex molecules. Discussions of the Faraday Society, 9, S. 14-19.
- Kessler, W. (2007): Multivariate Datenanalyse: für die Pharma-, Bio- und Prozessanalytik. Wiley VCH; Weinheim.
- Kortüm, G. (1969a): Reflexionsspektroskopie Grundlagen, Methodik, Anwendungen. Springer-Verlag, Berlin.
- Kortüm, G. (1969b): Reflectance Spectroscopy. Springer Verlag, Berlin.

- Kubelka, P., Munk, F. (1931): Ein Beitrag zur Optik der Farbanstriche. Zeitschrift für technische Chemie, *11*a, S. 593-601.
- Lakowicz, J.R. (2006): Principles of Fluorescence Spectroscopy. 3rd Edition; Springer, Berlin.
- Lahn M. (2007): "Untersuchung der intrazellulären Chloridionenkonzentration in Insektengeweben mittels FLIM-Mikroskopie", Diplomarbeit, Potsdam.
- Löhmannsröben, H.-G.; Schober, L. (1999): Combination of laser-induced fluorescence and diffusereflec-tance spectroscopy for the in-situ analysis of Diesel-fuel-contaminated soils. Applied Optics, *38*(9), S. 1404-1410.
- Magan, N.; Olsen, M. (Eds.) (2004): Mycotoxins in Food. Detection and Control. CRC Press, New York, Woodhead Publishing, Cambridge, England, 2004, XXVI + 471 pages, ISBN 0-8493-2557-9.
- Maragos, C.M.; Appell, M. Lippolis, V.; Visconti, A.; Catucci, L.; Pascale, M. (2008): Use of cyclodextrins as modifiers of fluorescence in the detection of mycotoxins. Food Additives and Contaminants, 25(2), S. 164-171.
- Meier, A. (2003): Zur Bedeutung von Umweltbedingungen und pflanzenbaulichen Maßnahmen auf den *Fusarium*-Befall und die Mykotoxinbelastung von Weizen. Dissertation, Landwirtschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms Universität zu Bonn, Bonn.
- Menzel, R. (2001): Photonics: Linear and Nonlinear Interactions of Laser Light and Matter. Springer-Verlag.
- Nagle, H.T.; Gutierrez-Osuna, R.; Schiffman, S. (1998): The How and Why of Electronic Noses. IEEE Spectrum, September, 22-34.
- Niemeyer, H.; Rattenberger, E. (2001): Mykotoxine im Getreide Untersuchungsergebnisse Ernte 2000. Tiergesundheitsdienst Bayern e.V., URL: http://www.tgdbayern.de/images/pdf/fachvor/myknie.pdf.
- Niemeyer, H.; Rattenberger, E. (2002): Mykotoxine im Getreide Untersuchungsergebnisse Ernte 2001. Tiergesundheitsdienst Bayern e.V., http://www.tgdbayern.de/images/pdf/fachvor/myknie01.pdf.
- Olsson, J.; Börjeson, T.; Lundstedt, T.; Schnürer, J. (2002): Detection and quantification of ochratoxin A and deoxynivalenol in barley grains by GC-MS and electronic nose. International Journal of Food Microbiology 72(3):203-214.
- Otto, M. (2007): Chemometrics: statistics and computer application in analytical chemistry. Wiley VCH, Weinheim.
- Pardo, E.; Malet, M.; Marín, S.; Sanchis, V.; Ramos, A. J. (2005): Effects of water activity and temperature on germination and growth profiles of ochratoxigenic *Penicillium verrucosum* isolates on barley meal extract agar. International Journal of Food Microbiology, *106*, S. 25-31.
- Pardo, E.; Marín, S.; Sanchis, V.; Ramos, A. J. (2004): Prediction of fungal growth and ochratoxin A production by *Aspergillus ochraceus* on irradiated barley grain as influenced by temperature and water activity. International Journal of Food Microbiology, – Elsevier.
- Pawlicki, M.; Collins, H.A.; Denning, R.G.; Anderson, H.L. (2009): Zweiphotonenabsorption und das Design von Zweiphotonenfarbstoffen. Angewandte Chemie, *121*, S. 3292-3316.
- Ramirez-Galicia, G.; Gardno-Juarez, R.; Vargas, M. G. (2007): Effect of water molecules on the fluorescence enhancement of Aflatoxin B1 mediated by Aflatoxin B1: beta-cyclodextrin complexes. A theoretical study. Photochemical and Photobiological Sciences, *6*, S. 110-118.
- Rasch, C.; Böttcher, M.; Kumke, M. (2010): Determination of Aflatoxin B₁ in alcoholic beverages: Comparison of one- and two-photon-induced fluorescence. Analytical and Bioanalytical Chemistry,397(1), S. 87-92.
- Rasch, C.; Kumke, M.; Löhmannsröben, H.-G. (2008): Mycotoxins is spectroscopically captured in grains. Nachrichten aus der Chemie, *56* (11), S. 1154-1158.
- Reiß, J. (1997) Schimmelpilze. 2. Aufl. Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag.
- Schnürer, J.; Olsson, J.; Börjesson, T. (1999): Fungal Volatiles as Indicators of Food and Feeds Spoilage. Fungal Genetics and Biology, 27(2-3) 1999:209-217.

Scott, W.J. (1957): Water relations of food spoilage microorganisms. Adv Food Res, 7, 83-127.

- Steinbrück, D. (2008): "Photophysik von Mykotoxinen in komplexen Matrizes Am Beispiel Ochratoxin A auf Mehl und Getreidekörnern", Diplomarbeit, Potsdam.
- Steinbrück, D.; Rasch, C.; Kumke, M. (2008): Photophysics of Ochratoxin A in Aqueous Solution. Zeitschrift für Naturforschung, 63b, S. 1321-1326.
- Storm, S.L.; Springsteen, A. Choosing the Right Sphere Size for Your Application; Labsphere Application Note 3.
- Sydenham, E.W.; Thiel, P.G.; Vleggaar, R. (1996): Physicochemical data for some selected Fusarium toxins. Journal of AOAC International, *79*(6), S. 1365-1379.
- Veronne, R.; Catucci, L.; Cosma, P.; Fini, P.; Agostiano, A.; Lippolis, V.; Pascale, M. (2007): Effect of β-cyclodextrin on spectroscopic properties of ochratoxin A in aqueous solution. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, 57(1-4), S. 475-479.
- Verordnung (EG) Nr. 472/2002
- Verordnung (EG) Nr. 856/2005
- Verordnung (EU) 824/2000, Anhang III
- Wang, D.; Dowell, F.E.; Lacey, R.E. (1999): Single Wheat Kernel Color Classification by Using Near-Infrared Reflectance Spectra. Cereal Chemistry, *76*(1), S. 30-33.
- Weidenbörner, M. (1998): Lebensmittelmykologie. 1. Aufl., Hamburg, Behr's Verlag.
- Xiao H.; Madhyastha, S.; Marquardt, R.R.; Li, S.; Vodela, J.K.; Frohlich, A.A.; Kemppainen, B.W. (1996): Toxicity of Ochratoxin A, Its Opened Lactone Form and Several of Its Analogs: Structure– Activity Relationships. Toxicology and Applied Pharmacology, 137, S. 182-192.
- Xu, C.; Zipfel, W.; Shear, J.B.; Williams, R.M.; Webb, W.W. (1996):: Multiphoton fluorescence excitation: new spectral windows for biological nonlinear microscopy. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 93, S. 10763–10768.

Teilprojekt 1.3 "Spezifische Verfahrensführung bei der Getreidetrocknung zur Inhibition von Mykotoxinbildnern durch sensortechnische Erfassung von Produktinhomogenitäten"

Berichterstatter: Jochen Mellmann, Udo Schlemm, Hendrik Richter, Kingsley Lawrence Iroba, Laszlo Kocsis

Teil I Kurzdarstellung

I.1. Aufgabenstellung

Ziel des Vorhabens war die Entwicklung eines zur Prozesskontrolle einsetzbaren Inline-Messverfahrens zur Bestimmung der Getreidefeuchte im Nacherntebereich. Darüber hinaus sollte das Konzept einer darauf basierenden, spezifischen Verfahrensführung für Getreidetrockner technisch umgesetzt und erprobt werden. Schwerpunkt der Arbeiten lag jedoch in der Entwicklung und großtechnischen Erprobung eines innovativen Mikrowellen-Sensors in Kooperation mit einem Messtechnikunternehmen. Ziel der Sensorentwicklung sollte sein, die Gutfeuchte und deren Verteilung in großen Getreide-Massenströmen wie zum Beispiel bei der Trocknung und anderen Nachernteprozessen im gesamten relevanten Feuchtebereich zwischen 10% und 40% messen zu können. Als Basis einer Trocknerregelung können damit die Entstehung von Mykotoxinbildnern durch Untertrocknung vermieden sowie thermische Schädigungen und Verkaufsverluste durch Übertrocknung minimiert werden.

Das Konzept der modellbasierten Verfahrensführung – ein IMC-Regler (Internal Model Control) – wurde im Vorläuferprojekt ProSenso.net1 (PSN1) entwickelt. Dieses sah ursprünglich eine messtechnisch einfach handhabbare und vielfach praktizierte, indirekte Feuchtebestimmung über die Ablufttemperaturen am Trocknereingang und -ausgang vor. Im Verlauf des Vorhabens zeigte sich jedoch, dass in der Getreidetrocknung der Trend in Richtung direkte Getreidefeuchtebestimmung geht und Trocknerhersteller, z.T. auch aus Marketinggründen, zunehmend entsprechende Online- oder Inline-Messverfahren einsetzen. Das neue Konzept basierte daher auf der direkten Messung der Gutfeuchte mittels neuartiger Mikrowellen-Sensoren. Vor Projektbeginn waren keine zuverlässig arbeitenden, dichteunabhängigen Online-Gutfeuchtesensoren verfügbar, die zur kontinuierlichen Messung der Gutfeuchte von erntefrischem Getreide am Trocknereingang geeignet wären.

Grundlage der modellbasierten Verfahrensführung war das in PSN1 entwickelte mathematische Modell für die Wärme- und Stoffübertragung des Trocknungsprozesses, welches für Ruheschicht- und satzweise arbeitende Getreidetrockner gilt. In der Getreidetechnik setzt sich der Trend zu immer leistungsfähigeren Erntemaschinen fort, der wiederum die Entwicklung noch leistungsfähigerer Warmlufttrockner forciert. Daher sollte in PSN2 dieses Modell um ein Teilmodell für den Schüttguttransport ergänzt und weiter entwickelt werden, so dass auch kontinuierlich arbeitende Getreidetrockner mit weitaus höheren Durchsatzleistungen berechnet und in das Regelungskonzept einbezogen werden können. Eine weitere wesentliche Zielstellung des Projektes bestand daher in der Entwicklung eines mathematischen Modells für die Schüttgutbewegung. In diesem Vorhaben sollten daher grundlegende Untersuchungen zur Partikelbewegung und -durchmischung angestellt werden. Zur Validierung dieses Modells sowie des Prozessmodells sollten Versuche zur Partikelbewegung sowie Trocknungsversuche am ATB-Trockner durchgeführt werden. Es war vorgesehen, das Schüttguttransportmodell in das Prozessmodell zu integrieren.

Der neue Mikrowellen-Sensor und die modellbasierte Verfahrensführung sollten im Pilotmaßstab am ATB-Trockner und im großtechnischen Maßstab an einem industriellen Trockner erprobt werden.

I.2. Voraussetzungen zur Durchführung des Vorhabens

Dieses Projekt wurde am Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. (ATB) als Gemeinschaftsvorhaben der Abteilungen Technik der Aufbereitung, Lagerung und Konservierung (AG Trocknung) und Bioverfahrenstechnik (AG Analytik) mit den externen Partnern TEWS Elektronik, Hamburg, und PETKUS Technologie GmbH, Wutha-Farnroda, durchgeführt. Als assoziierte Partner waren der Lehrstuhl für Thermische Verfahrenstechnik (Prof. Tsotsas) der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg und das Department of Physics and Process Control (Prof. Farkas) der Universität Gödöllö in Ungarn beteiligt.

Die Abteilung Technik der Aufbereitung, Lagerung und Konservierung besitzt langjährige Erfahrungen auf dem Gebiet der landwirtschaftlichen Trocknungstechnik. Es verfügt über ein komplett ausgerüstetes Trocknungslabor und entsprechende Technikumsanlagen (Dächerschachttrockner, Silotrockner, mobiler Flächentrockner mit Wärmepumpe im Technikumsmaßstab). Zu den wichtigsten Arbeitsgebieten zählen die Optimierung bestehender Verfahren und Anlagen, beispielsweise durch Anwendung von Methoden der mathematischen Modellierung und Automatisierung, sowie die Entwicklung neuer energieeffizienter Trocknungsverfahren im Food- und Non-Food-Bereich.

Die Abteilung Bioverfahrenstechnik entwickelt neue Verfahren zur biotechnologischen Konversion nachwachsender Rohstoffe für die Energiegewinnung und Erzeugung von Grundchemikalien. Sie erforscht die verfahrenstechnischen Grundlagen der Biokonversion sowie Grundlagen der Umweltbioverfahrenstechnik und der technischen Mikrobiologie. Die AG Analytik verfügt über eine Prozess begleitende, chemische Analytik mit entsprechend ausgerüsteten Laboren, führt u.a. Analysen von Ernte-, Boden- und Reststoffproben durch und erarbeitet analytische Standardmethoden.

Die Firma TEWS Elektronik, Hamburg, verfügt über langjährige Erfahrungen in der Mikrowellensensortechnik für den Labor- und Industrieeinsatz und über Forschungs- und Entwicklungspotenzial auf den Gebieten der Materialuntersuchung und Sensorentwicklung. Die Firma PETKUS Technologie GmbH, Wutha-Farnroda, ist ein traditionsreiches mittelständisches Unternehmen und zählt zu den führenden Herstellern von Getreidetechnik und -trocknern in Deutschland.

I.3. Planung und Ablauf des Vorhabens

I.3.1. Entwicklung des Online-Mikrowellensensors

Die Sensorentwicklung erfolgte in Zusammenarbeit mit der Firma TEWS Elektronik und der Firma PETKUS sowie im Zuge der Vernetzung dieses Vorhabens mit dem Teilprojekt 'Sensor zur online - Getreidefeuchtemessung'. Die Arbeiten wurden entsprechend der Arbeitszeitplanung des Vorhabens realisiert. Grundlage der Entwicklung bildete das Mikrowellen-Resonatorverfahren, auf das die Firma TEWS spezialisiert ist. Zur Auswahl geeigneter Resonatoren wurden zunächst Labortests bei TEWS durchgeführt. Aus der Reihe der Standardsensoren wurden die Streufeldsensoren vom Typ P66/50 und P145/180 ausgewählt. Diese Sensoren wurden im Laufe des Projekts zur Getreidefeuchtemessung eingesetzt und weiterentwickelt. Dazu wurden umfangreiche Kalibrationsmessungen (insgesamt 12 Messreihen) an den Getreidearten Weizen, Gerste, Roggen, Hafer, Triticale und Mais durchgeführt. Diese Messreihen erfolgten in den Laboren und Technika des ATB, das auch die Probenvorbereitungen und die Referenz-Feuchtebestimmungen realisierte. Die Kalibrationsmessungen erstreckten sich über nahezu den gesamten Projektzeitraum und wurden im Frühjahr 2009 abgeschlossen. Schwerpunkt der Entwicklung bildete die Hauptgetreideart Weizen, an dem auch die Temperaturkompensation der Sensoren vorgenommen wurde. Die Prototypen der neuen Sensoren wurden in der Versuchskampagne 2007/2008 zunächst im Technikumsmaßstab am Versuchstrockner des ATB erprobt und Langzeittests unterzogen. In der Ernteperiode 2009 erfolgte die abschließende großtechnische Erprobung an einem Industrietrockner der Firma PETKUS unter realen Praxisbedingungen. Die Sensorentwicklung wurde erfolgreich abgeschlossen.

I.3.2. Prozessmodell – Schüttgutbewegung

Zur Weiterentwicklung des Prozessmodells für den Dächerschachttrockner wurde im Rahmen des vorliegenden Projekts ein mathematisches Modell für die Schüttgutbewegung entwickelt. Grundlage dieses Modells bildet die Diskrete Elemente Methode (DEM), mit der die diskrete Bewegung aller Einzelpartikel eines Haufwerks simuliert werden kann. Hierzu wurden aus Projektmitteln Lizenzen der kommerziellen Software Particle Flow Code (PFC), Firma Itasca, für zwei- und dreidimensionale Simulationen angeschafft. Für die umfangreichen numerischen Berechnungen wurde eine leistungsfähige Workstation gekauft. Im Rahmen der Mastarbeit Iroba wurde ein zweidimensionales Modell entwickelt und erfolgreich experimentell getestet. Auf Basis der Software PFC-3D wurden in 2009 Simulationen zur dreidimensionalen Partikelbewegung durchgeführt. Wegen des hohen numerischen Rechenaufwandes und der begrenzten Partikelanzahl sind reale Apparategeometrien in 3D bisher nur unter starken Vereinfachungen berechenbar. Da die Schüttgutbewegung im Dächerschachttrockner quasi-zweidimensionalen Charakters ist, wurde das 2D-Modell weiterentwickelt. Die Modellentwicklung wurde erfolgreich abgeschlossen.

Die Kopplung des Schüttguttransportmodells mit dem Prozessmodell konnte im Rahmen dieses Projekts nicht realisiert werden. Die Vernetzung von DEM-Modellen zur diskreten Simulation der Partikelbewegung mit Kontinuumsmodellen für fluide Strömungs-, Wärme- und Stoffübertragungsvorgänge befindet sich noch im Entwicklungsstadium. Hieran wird gegenwärtig weltweit geforscht. Andererseits fand innerhalb der Projektlaufzeit ein Bearbeiterwechsel statt, der zu Verzögerungen bei der Prozessmodellierung geführt hat.

I.3.3. Verfahrensführung des Dächerschachttrockners

Die Kenntnis des statischen und dynamischen Verhaltens einer Regelstrecke, z.B. eines Trockners, ist von außerordentlicher Bedeutung für die Auslegung des Regelkreises. Um Erkenntnisse zur Verfahrensführung von Dächerschachttrocknern zu gewinnen, wurden im Rahmen des Vorhabens Trocknungsversuche an der Technikumsanlage des ATB zur Ermittlung des statischen und dynamischen Trocknerverhaltens durchgeführt. Die Aufnahme statischer Kennlinien und des dynamischen Verhaltens anhand von Übergangsfunktionen (z.B. Sprungantwortfunktionen) erfordert eine Vielzahl von Experimenten und die Einhaltung konstanter Versuchsbedingungen und ist daher unter Produktionsbedingungen an einer Industrieanlage kaum realisierbar. Diese Untersuchungen konnten an der gut ausgerüsteten Technikumsanlage des ATB erfolgreich durchgeführt werden.

Mit der erfolgreich abgeschlossenen Entwicklung eines innovativen Online-Gutfeuchtesensors auf Basis des Mikrowellen-Resonatorverfahrens wurde eine Grundvoraussetzung für das Konzept der Trocknerregelung auf Basis der direkten Feuchtemessung geschaffen. Durch den Bearbeiterwechsel konnten die Arbeiten zur Prozessmodellierung nicht im geplanten Umfang realisiert werden. Aus diesem Grunde konnte auch die modellbasierte Verfahrensführung nicht in die Praxis umgesetzt werden.

Ein ausschlaggebendes Kriterium für die Güte des Trocknungsverfahrens und der Verfahrensführung ist die Gleichmäßigkeit der Trocknung, die unmittelbaren Einfluss auf die Produktqualität hat. Deshalb wurden die umfangreichen Trocknungsversuche gleichzeitig dazu genutzt, um Produktinhomogenitäten sensortechnisch zu erfassen. Dazu wurden im Einzelnen Gutfeuchte- und Guttemperaturverteilungen sowie Schüttgutmassenstrom-, Partikelgeschwindigkeits- und Verweilzeitverteilungen im Dächerschachttrockner gemessen. Diese Untersuchungen waren sehr erfolgreich: die am Trockneraustrag erstmals sehr detailliert gemessenen Gutfeuchte- und Guttemperaturverteilungen wiesen erhebliche Schwankungen auf, die auch im industriellen Maßstab nachgewiesen werden konnten. Die festgestellten Produktinhomogenitäten sind nicht auf regelungstechnische sondern apparativ-verfahrenstechnische Mängel dieses Trocknertyps zurückzuführen. Aus diesen Ergebnissen lässt sich schlussfolgern, dass die verfahrenstechnische Optimierung des Trocknerapparates ein erhebliches Potenzial zur Energieeffizienzsteigerung aufweist. Der Fokus weiterer Forschungen liegt daher auf diesem Gebiet.

I.4. Stand von Wissenschaft und Technik

I.4.1. Gutfeuchtesensoren zur Trocknerregelung

Aus der Vielzahl der Messverfahren zur Bestimmung der Materialfeuchte von Schüttgütern (Kupfer 1997) werden zur kontinuierlichen Online- oder Inline-Messung in verfahrenstechnischen Prozessen überwiegend das NIR-Messverfahren, das kapazitive und das Mikrowellen-Messverfahren eingesetzt (Freudenberger 1989; Theisen 1995; Heindl & Heindl 1998). Die Nah-Infrarot-Spektroskopie hat sich zur Online-Messung und Steuerung der Gutfeuchte beispielsweise in der Grünfuttertrocknung bewährt (Gasteiger 1992). Da mit diesem Messverfahren nur die Oberflächenfeuchte erfasst wird, ist es für die kontinuierliche Getreide-Feuchtemessung jedoch ungeeignet.

Die Fa. Riela nutzt zur Inline-Messung und Regelung der Getreidefeuchte in ihren Dächerschachttrocknern ein kapazitives Messverfahren (Böckelmann 2003; Gramatte & Häuser 2004; Riela GmbH 2005), bei dem ein dachähnlicher Einbau als Anode ausgeführt ist und die Trocknersäule selbst als Kathode dient. Das Trocknungsgut bildet das Dielektrikum. Vorteile dieses Messverfahrens sind das große Messvolumen, welches sich über den gesamten Trocknerquerschnitt erstreckt und über das die Gutfeuchte gemittelt wird, sowie breite Feuchte- und Temperatur-Einsatzbereiche. Dadurch kann diese Messtechnik an beliebigen Positionen im Trockner eingesetzt werden. Nachteilig ist der große Aufwand für die Kalibrierung, die nur im eingebauten Zustand im Trockner für die verschiedenen Trocknungsgüter vorgenommen werden kann. Produktinhomogenitäten können nicht erfasst werden. Auch die Reproduzierbarkeit, Überprüfung und Wartung der Messtechnik sind als problematisch einzuschätzen.

Fa. Laxhuber verwendet in ihren Getreidetrocknern die Trocknersteuerung vom Typ stela FRA 450 auf Basis des Mikrowellen-Inline-Messsystems TRIME-GW von der Fa. IMKO Micromodultechnik (Laxhuber 2001; Latein et al. 2003; Stela Laxhuber GmbH 2010). Dieser Getreidefeuchtesensor beruht auf einem dielektrischen Messverfahren, bei dem die Laufzeiten von elektromagnetischen Impulsen zur Messung der Dielektizitätskonstanten und damit des Wassergehaltes bestimmt werden (IMKO GmbH 2010). Der Vorteil dieser Messtechnik liegt in den weiten Einsatzbereichen für Gutfeuchtigkeit (5 bis 45%) und Umgebungstemperatur (0 bis 127°C). Dadurch kann der Sensor an beliebigen Messstellen im Trockner eingesetzt werden. Einschränkend ist zu bemerken, dass zuverlässige Messwerte nur unter gleich bleibenden Bedingungen wie Betriebszustand, Gutart und insbesondere Guttemperatur gewonnen werden können (Gramatte & Niethammer 2000). Während der Trocknung sind jedoch Schwankungen in der Gutfeuchte und Guttemperatur an ein und derselben Messstelle stets zu erwarten, wie beispielsweise am Trocknereintrag. Daher erscheint dieses Messgerät für den Einsatz in der Trocknerregelung nur beschränkt geeignet. Weitere Nachteile sind der vorhandene Schüttdichteeinfluss, der durch das Ein-Parameter-Messverfahren bedingt ist, und die notwendige Kalibrierung im eingebauten Zustand. Durch den Einsatz der Trocknersteuerung FRA 450 werden zwar Einsparungen durch Reduzierung der Untertrocknung erzielt (Latein et al. 2003), die Schwankungen der Austrags-Gutfeuchte betragen nach Herstellerangaben jedoch immer noch bis zu ± 0,8%, was für den Zweck der Getreidetrocknung zu groß ist.

Dagegen bietet die Mikrowellen-Feuchtemesstechnik der Fa. TEWS Elektronik günstige Voraussetzungen für den Einsatz in Getreide-Trocknungsanlagen und in der Trocknerregelung. Das physikalische Messprinzip basiert auf dem patentierten Mikrowellen-Resonanz-Verfahren, mit dem Feuchte und Dichte (Schüttdichte) des Gutes unabhängig voneinander gemessen werden (Herrmann & Sikora 1997; TEWS 2010). Dies wird ermöglicht durch ein Zwei-Parameter-Messverfahren, bei dem sowohl Real- als auch Imaginärteil der Dielektrizitätskonstanten erfasst werden. Der Gutwassergehalt wird dabei über die Verstimmung und Dämpfung der Resonanzfrequenz des Resonators ermittelt. Vorteile dieses Messverfahrens sind:

- sehr schnelle Messung (< 1 sec),
- sehr genau durch hohe Wasserselektivität,
- unabhängig von Dichte und Gewicht (der Probe),

- zerstörungsfreie Messung bei sehr geringer Mikrowellenleistung (< 10 mW),
- unabhängig von Farbe, Struktur und Oberflächeneffekten des Gutes,
- kein Einfluss von ionischen Bestandteilen und Salzen,
- langzeitstabile und weitgehend sortenunabhängige Kalibration,
- automatische Temperaturkompensation.

Aufgrund der geringen Mikrowellenleistung kommt es nicht zu einer Erwärmung oder chemischen Veränderung des Gutes. Mikrowellen durchdringen Stoffe bei den verwendeten Frequenzen vollständig, so dass das gesamte physikalisch gebundene Wasser erfasst wird, sowohl das Oberflächenwasser als auch das durch Kapillar-Kondensation gebundene Wasser. Die hohe Wasserselektivität wird erreicht, da größere Molekülgruppen oder Ionen den Feldänderungen nicht folgen und somit die Messung nicht stören. Die automatische Temperaturkompensation des Sensors erlaubt es, bei Temperaturen von etwa 0°C – 110°C (Umgebungstemperatur des Sensors) Messungen mit hoher Genauigkeit durchzuführen. Der Sensor ist für den industriellen Einsatz als Planarsensor ausgeführt und lässt sich dadurch beispielsweise gut in Apparatewände (z.B. Schüttgutrinnen, Bunkerwände) integrieren. Dieses Mikrowellen-Resonanz-Verfahren wird bereits erfolgreich zur Steuerung verfahrenstechnischer Prozesse wie Mischen, Pressen, Befeuchten und Trocknen von Schüttgütern sowie in der Qualitätskontrolle eingesetzt, wie z.B. bei Tabak oder Kaffee. Das Messverfahren wird auch im Laborbereich und als Schnellmessmethode verwendet (Riou & Herrmann 1998).

Über weitere Online-Gutfeuchtemessverfahren berichten unter anderen Spitzlei (2002), Dantec (2005), Amoodeh *et al.* (2006), Vogelei & Baumann (2007), Poppe (2007) sowie Stärk *et al.* (2009). Auf die Entwicklung eines dichte-unabhängigen Online-Feuchtesensors zielen auch die Arbeiten von Berbert *et al.* (2006). Das dielektrische Messverfahren dient der Feuchtebestimmung an Bohnen-Saatgut.

I.4.2. Modellierung Trocknungsprozess und Schüttgutbewegung

Trocknungsprozess

Die wissenschaftlichen Grundlagen zur Trocknungstechnik sind in Fachbüchern wie Krischer & Kast (1978), Gnielinski *et al.* (1993) und Tsotsas & Mujumdar (2007) dargelegt. Grundlegende Prinzipien der mathematischen Modellierung von Getreidetrocknungsprozessen werden unter anderen von Maltry (1975), Maltry *et al.* (1975), Brooker *et al.* (1992), Jayas *et al.* (1995), Pabis *et al.* (1998) und Mühlbauer (2009) beschrieben.

Erste experimentelle und theoretische Untersuchungen an Dächerschachttrocknern für Getreide gehen auf Arbeiten von Maltry (1966) und Nellist (1974) zurück. Klinger (1977) untersuchte den Einfluss unterschiedlicher Luftkanalformen ("Dachformen") auf die Luft- und Gutströmung. Bruce (1984) sowie Miller & Whitfield (1984) simulieren den Trocknungsprozess unter der Annahme, dass einzelne Getreideschichten von der Trocknungsluft abwechselnd im Gleich- und im Gegenstrom durchströmt werden. Der Kreuzstromanteil wurde vernachlässigt. Klemmer (1989) entwickelte ein mathematisches Modell für den Wärme- und Stoffübergang in einem Dächerschachttrockner, das auf experimentell ermittelten Trocknungsgeschwindigkeiten beruht. Die Übereinstimmung berechneter Ergebnisse mit Messdaten ist allerdings nur befriedigend. Cenkowski *et al.* (1990) untersuchten die Strömungsverteilung der Trocknungsluft im Dächerschachttrockner. Diese wird mit Hilfe eines mathematischen Modells unter der Annahme einer ruhenden Schüttung berechnet. Liu & Bakker-Arkema (1997) und Bakker-Arkema & Liu (1997) leiten stochastische Modelle zur Berechnung der Einzelkorn-Feuchteverteilung in der Getreideschüttung eines Gleichstromtrockners (eindimensionales Modell) und eines Kreuzstromtrockners (zweidimensionales Modell) her. Wie die experimentelle Überprüfung ergab (Liu *et al.* 1997), stimmen die Versuchsergebnisse mit berechneten Feuchteverteilungen gut überein. Ein zweidimensionales Modell für den stationär betriebenen Dächerschachttrockner wird von Giner *et al.* (1998a,b) vorgeschlagen. Zur Berechnung der Gut- und Luftströmungen wird der Zwischenraum zwischen den Zuluft- und Abluftkanälen in einzelne Abschnitte für Gleich-, Gegen- und Kreuzstrom unterteilt. Durch Einbeziehung von Kreuzstromelementen konnte die Berechnung des intensiven Wärme- und Stoffüberganges in der Nähe der Luftkanäle verbessert werden. Verschiedene Modellansätze zur Simulation der Festbetttrocknung von Getreide wurden in (Farkas *et al.* 2000; Sitompul *et al.* 2003; Abu-Hamdeh & Othman 2004; Stakic & Tsotsas 2005) veröffentlicht.

Cao *et al.* (2007) entwickelten ein Computer-Simulationsprogramm für den Dächerschachttrockner, mit dem die Wirkung verschiedener Design- und Betriebsparameter auf die Trocknungsleistung und den spezifischen Energieverbrauch untersucht wurde. Simuliert wurde ein Trockner im Pilotmaßstab mit einem Durchsatz von 4,5 t/h. Neben den bekannten Effekten wurde unter anderem festgestellt, dass kleine Luftkanäle effektiver sind als große. Diese Simulationen ergaben weiterhin, dass sich höhere Korntemperaturen am Trocknereintrag günstig auf die Energieeffizienz und die Trocknungsleistung auswirken. Ein Vergleich mit Messergebnissen wurde jedoch nicht durchgeführt. Als Basis für eine modellbasierte Trocknerregelung entwickelten Mellmann *et al.* (2007) ein mathematisches Modell für den Dächerschachttrockner. Dieser Ansatz beruht auf einem Schüttungsmodell, das mit einem Dünnschichtmodell (Schalenmodell) für das Einzelkorn gekoppelt wurde. Die Schüttgutbewegung wurde jedoch vereinfacht als Pfropfenstrom (plug-flow) betrachtet.

Durch Anwendung innovativer Mess- und Analysentechnik sowie moderner experimenteller Methoden werden gegenwärtig verstärkt Grundlagenuntersuchungen zur Getreidetrocknung durchgeführt. Ghosh et al. (2007) ermittelten die Trocknungskinetik einzelner Bestandteile des Weizenkorns wie Fruchtschale, Mehlkörper (Endosperm) und Keimling experimentell mit Hilfe der Kernspin-Resonanztomografie (MRI). Ziel dieser Untersuchungen ist die Weiterentwicklung bestehender mathematischer Modelle für die Dünnschichttrocknung. Zur Analyse der Luftdurchströmung von Getreideschüttungen und Messung von Luftwiderstandsdifferenzen in horizontaler bzw. vertikaler Strömungsrichtung wurde die Röntgen-Computer-Tomographie angewendet (Neethirajan et al. 2006). Diese Versuche ergaben bei Weizen um bis zu 100% größere Strömungsquerschnitte und -weglängen in horizontaler Richtung als in vertikaler Richtung. Auch das Nachernteverhalten und die Qualitätseigenschaften von Getreide werden weiter erforscht mit dem Ziel, deren Beeinflussung durch Konservierungsverfahren wie die Trocknung besser zu verstehen (Münzing 2008a,b). Zur Entwicklung eines neuartigen Verfahrens zur Körnermaistrocknung mit Mikrowellenapplikation wurden von Böckelmann et al. (2007a,b) Versuche im Labor- und Technikumsmaßstab durchgeführt. Die Produktqualität wurde mittels Computer-Tomographie analysiert.

Schüttgutbewegung

Die Schüttgutbewegung wurde in der Prozessmodellierung von Dächerschachttrocknern bisher vernachlässigt. Es liegen weder Modellansätze zur Partikelbewegung vor noch sind detaillierte experimentelle Untersuchungen hierzu bekannt geworden. Erste Experimente zur qualitativen Analyse des Bewegungsverhaltens in kleinen Trocknermodellen wurden von Maltry (1966) und Klinger (1977) vorgenommen. Hierzu wurden unterschiedlich gefärbte Getreidekörner verwendet und deren Bewegungsmuster fotografisch festgehalten. Die Autoren führten jedoch keine Messungen, z.B. der Partikelgeschwindigkeiten, durch. Kocsis *et al.* (2007, 2008b) untersuchten auf Grundlage der Arbeiten von Teodorov (2006) den Einfluss der Luftkanäle und der Seitenwände auf die Schüttgutbewegung. Es wurden Geschwindigkeitsverteilungen über dem Trocknerquerschnitt und Massenstromverteilung über dem Austragsquerschnitt analysiert. Die Wirkung dieser Designelemente auf die Verweilzeitverteilung wurde nicht ermittelt.

Die experimentelle Verweilzeitanalyse ist eine geeignete und in der Verfahrenstechnik weit verbreitete Methode zur Untersuchung des Strömungsverhaltens von Fluiden in Apparaten, die auf unterschiedlichen Tracertechniken basiert. Deren Grundlagen wurden u.a. bereits von Danckwerts (1953) und Levenspiel & Smith (1957) erarbeitet. Die Verweilzeitanalyse wird auch häufig und erfolgreich eingesetzt, um das Bewegungsverhalten der Schüttungen in Trocknungsverfahren und anderen verfahrenstechnischen Prozessen zu analysieren, siehe zum Beispiel (Mellmann 1989; Xu & Pang 2008; Renström 2008). Im vorliegenden Projekt wurde diese Methode erstmals auf die Schüttgutbewegung in Dächerschachttrocknern angewandt. Durch Analyse gemessener Verweilzeitverteilungen konnten Ungleichmäßigkeiten in der Partikelbewegung und die sie verursachenden Strömungshindernisse identifiziert werden (siehe Kapitel 1.2.4).

Zur Berechnung der Schüttgutbewegung in verfahrenstechnischen Prozessen wird zunehmend die Diskrete Elemente Methode (DEM) eingesetzt (Gröger 2005). Die DEM wurde ursprünglich von Cundall (1971) zur Analyse der Bewegung von Gebirgsformationen entwickelt und später von Cundall & Strack (1979) auf Böden und Lockergestein angewendet. DEM-Simulationen basieren auf Kräftebilanzen mit einfachen Modellen für die interpartikulären Kräfte auf der Grundlage der Newton'schen Gesetze (Itasca 2004). Bei dieser Berechnungsmethode zur Lösung der Erhaltungsgleichungen für Masse und Impuls wird die Bewegung jeder einzelnen Partikel im Haufwerk simuliert. Gegenüber den kontinuumsmechanischen Modellen, die z.B. mit der Finite-Elemente-Methode berechnet werden können, hat diese Methode einige wesentliche Vorteile. So sind keine kontinuumsmechanischen Eigenschaften der Schüttgüter zu definieren. Bekanntlich sind diese keine reinen Materialeigenschaften, sondern vom jeweiligen Bewegungszustand abhängige Größen. Schnell fließende Güter eher festkörperähnliche Eigenschaften aufweisen.

Die DEM wurde bisher in zahlreichen Applikationen erfolgreich eingesetzt, z.B.: Wellenausbreitung in Haufwerken (Sadd *et al.* 2000), Partikelbewegung in Mischern (Stewart *et al.* 2001), Bewegung und Durchmischung von Schüttgütern (Bertrand *et al.* 2005). Diese Methode wurde beispielsweise auch zur Berechnung der Durchmischung und Wärmeübertragung in Kontakttrocknern genutzt (Kwapinska *et al.* 2006; Tsotsas *et al.* 2007). Sie wurde bislang noch nicht auf den Dächerschachttrockner appliziert. Der Trockneraufbau und die Homogenität des Bettmaterials Getreide legen deren Einsatz jedoch nahe, wie in Kapitel 1.2.3 gezeigt werden konnte.

I.4.3. Regelung von Dächerschachttrocknern

Grundlagen zur Regelung von Getreidetrocknern wurden unter anderen von Olesen (1982), Brooker *et al.* (1992) und Nellist & Bruce (1995) publiziert. Dächerschachttrockner sind durch extrem lange Totzeiten gekennzeichnet, deren Beherrschung mit herkömmlichen Mitteln der Regelungstechnik schwierig ist (Whitfield 1988a,b). Bislang werden zur Automatisierung des Getreide-Trocknungsprozesses überwiegend SPS-Steuerungen eingesetzt. Dabei wird meist die Ablufttemperatur als Regelgröße zur Steuerung der Gutfeuchte am Trockneraustrag verwendet (Pabis *et al.* 1998). Als Stellgröße dient üblicherweise die Durchlaufgeschwindigkeit des Gutes, das heißt der Gutmassenstrom, der durch Ansteuerung der Austragsvorrichtung eingestellt wird. Diese Art der Trocknerregelung ist Stand der Technik und wird auch heute noch von einigen Trocknerherstellern favorisiert (Poppe 2010). Auf dem Trocknermarkt setzen sich dennoch zunehmend Regelungssysteme auf Basis der direkten Gutfeuchtemessung mit geeigneten Online-Feuchtesensoren durch.

Für Feedforward- und Feedforward-Feedback Steuerungssysteme werden bevorzugt einfache Modelle verwendet, die den Zusammenhang zwischen Input und Output des Trockners unter stationären Bedingungen beschreiben (McFarlane & Bruce 1991; Bruce & McFarlane 1992). Dagegen erfordert die modellbasierte Regelung komplexere mathematische Modelle, mit denen die Dynamik des Trocknungsprozesses berechenbar ist [(Nellist & Bruce 1995), (Liu & Bakker-Arkema 2001), (Courtois *et al.* 2001)]. Dabei kommen meist adaptive Regelungssysteme zur Anwendung. Diese verwenden Messdaten des Trockners und Rechenergebnisse des mathematischen Modells zur Bestimmung von Modellparametern. Auf diese Weise wird das Modell dem Trockner ständig angepasst. Basierend auf einem statistischen Modell nach der Prinzipiellen Komponenten-Analyse (PCA) entwickelten Liu *et al.* (2006) eine Prozesssteuerung für die Trocknung von Mais in einem Dächerschachttrockner.

Die bisher entwickelten Systeme wurden jedoch meist erst im Labor- oder Technikumsmaßstab erprobt und konnten u.a. aufgrund fehlender zuverlässiger Messtechnik (insbesondere für die Getreidefeuchte) nicht in die Praxis überführt werden. In der großtechnischen Praxis betriebene modellbasierte Regelungssysteme für Getreidetrockner sind bisher nicht bekannt.

I.5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Das Vorhaben wurde durch das Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. (ATB) koordiniert. Die Bearbeitung der umfangreichen Projektaufgaben erforderte eine interdisziplinäre Zusammenarbeit zwischen Forschung und Industrie. Die Entwicklung des Mikrowellensensors zur Online-Getreidefeuchtemessung und dessen Erprobung unter praxisnahen Bedingungen im Technikumsmaßstab und im großtechnischen Maßstab an einem Industrietrockner wurde in Zusammenarbeit der Projektpartner ATB Potsdam, TEWS Elektronik Hamburg und PETKUS Wutha-Farnroda realisiert. Zur Weiterentwicklung des Prozessmodells und des Konzepts zur Verfahrensführung von Dächerschachttrocknern fand darüber
hinaus eine enge Kooperation mit assoziierten Partnern (Universität Gödöllö, Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg) statt.

Die Firma TEWS Elektronik führte Grundlagenuntersuchungen und numerische Simulationen zum Mikrowellen-Resonatorverfahren durch. Nach Auswahl eines geeigneten Standard-Planarsensors erfolgte dessen Weiterentwicklung zu einem neuartigen Streufeldsensor mit deutlich erweitertem Messbereich für die Gutfeuchte. Wesentlicher Teil der Entwicklung waren die zahlreichen Kalibrations- und Testmessungen an fünf verschiedenen Getreidearten, die in enger Zusammenarbeit mit dem ATB in den Laboren und Technika in Potsdam durchgeführt wurden. Hierzu zählt auch die Sensorerprobung im Technikumsmaßstab, die in 2007/2008 am ATB-Dächerschachttrockner realisiert wurde.

Mit der Firma PETKUS wurden Fragestellungen zum Trocknungsprozess und zur Verfahrensführung erörtert. Hierzu fanden mehrere Beratungen zwischen den Projektpartnern statt. Firma PETKUS übernahm die Auswahl eines geeigneten großtechnischen Dächerschachttrockners bei einem Kunden und bereitete in Zusammenarbeit mit Firma TEWS den Einbau der Sensoren vor. Die großtechnische Sensorerprobung erfolgte in der Ernteperiode 2009 in einem Agrarbetrieb in Mecklenburg-Vorpommern, der PROHAD GmbH Ivenacker Eichen.

Zur mathematischen Modellierung von Trocknern und zur DEM-Simulation der Schüttgutbewegung kooperierte das ATB sehr eng mit dem Lehrstuhl für Thermische Verfahrenstechnik (Prof. Tsotsas, Jun.-Prof. Metzger) der Universität Magdeburg. Prof. Tsotsas übernahm auch die Betreuung des Doktoranden, Herrn Iroba. Auf dem Gebiet der modellbasierten Trocknerregelung fand ein fachlicher und personeller Austausch mit der Universität Gödöllö (Prof. Farkas, Prof. Mészáros) statt. Innerhalb des ATB erfolgte eine intensive Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe Klimatisierung, Strömungstechnik (Prof. Gottschalk).

Teil II Ausführliche Darstellung

II.1. Erzielte Ergebnisse

II.1.1. Innovativer Mikrowellensensor zur Online-Getreidefeuchtemessung

In der Phase der Projektanbahnung wurde ursprünglich die Idee eines Inline-Messverfahrens für die Getreidefeuchte entwickelt und zur späteren Anwendung in der Trocknerregelung favorisiert. Konstruiert als "Einstechfühler", sollte dieser im Hauptstrom des Getreideflusses im Trockner zum Einsatz kommen. Die Schüttgutbewegung wird bekanntlich zu den Wänden hin abgebremst, so dass an diesem Messort nicht die aktuelle mittlere Gutfeuchte gemessen werden kann. Aufgrund der komplizierten Konstruktion und der Notwendigkeit eines intermittierenden Nullabgleichs der Sensoren, der einen beweglichen Sensor und damit einen Stellantrieb erfordert hätte, wurde jedoch von dieser Idee Abstand genommen. Die Neuentwicklung wurde daher auf den für Planarsensoren typischen Wandeinbau fokussiert. Bei der Montage dieser Online-Sensoren ist allerdings auf reibungslosen Schüttgutfluss zu achten. In Betracht kommen sollten dafür möglichst senkrechte oder ausreichend geneigte Apparatewände.

Die Entwicklung der neuartigen Online-Mikrowellensensoren erfolgte in Zusammenarbeit des ATB Potsdam mit der Fa. TEWS Elektronik Hamburg (Teilprojekt 'Sensor zur online – Getreidefeuchtemessung') und dem Trocknerhersteller PETKUS Wutha-Farnroda.

II.1.1.1. Grundlagen des Mikrowellen-Resonatorverfahrens

Als Messmethode zur Online-Getreidefeuchtemessung wurde das Mikrowellen-Resonatorverfahren gewählt, auf das die Firma TEWS Elektronik spezialisiert ist (Tews 1991, 1998). Das Mikrowellen-Resonatorverfahren ist ein hochfrequentes Messverfahren, das für Labor- oder Prozessanwendungen geeignet ist. Als Sensoren kommen entweder Hohlraum- oder Streufeldresonatoren zum Einsatz. Mit dem Mikrowellen-Resonatorverfahren ist einerseits eine Feuchtemessung möglich, die unabhängig von der Dichte bzw. der Masse des Messgutes ist. Andererseits kann eine Dichte- oder Massebestimmung unabhängig von der Feuchte des Messgutes durchgeführt werden. Im Folgenden werden die Grundlagen dieser Messtechnik beschrieben, siehe dazu auch (Herrmann & Sikora 1997; Hauschild 2005).

Die jeweils zur Messung benutzte Resonanz wird durch zwei Parameter charakterisiert (Bild 1): die Resonanzfrequenz f_0 und die Halbwertsbreite w_0 der Resonanzkurve.



Bild 1: Resonanzkurve

Wird ein Messgut in den Resonator eingebracht bzw. bei Streufeldresonatoren mit dem Resonator in Kontakt gebracht, sinkt die Resonanzfrequenz, und gleichzeitig nimmt die Halbwertsbreite der Resonanzkurve zu, wie Bild 2 veranschaulicht. Bei jeder Messung wird die Veränderung dieser beiden Resonanzparameter bei Belastung des Resonators mit Messgut gemessen. Die Veränderung beider gemessener Parameter ist in gleicher Weise abhängig von der Masse bzw. der Dichte des Messgutes, jedoch in unterschiedlicher Weise von seiner Feuchte. Der Quotient der beiden Messgrößen ist deshalb nur abhängig von der Messgutfeuchte. Dieser Quotient ist also ein geeigneter Wert zur dichte- und masseunabhängigen Feuchtemessung. Im Folgenden wird die Kalibration der Feuchtemessung beschrieben.



Bild 2: Resonanzkurven des leeren und des gefüllten Resonators

Die erste Messgröße ist die Resonanzfrequenzverschiebung A in Hz:

$$A = f_0 - f_m \tag{1}$$

mit f_0 der Resonanzfrequenz des leeren Resonators in Hz und f_m der Resonanzfrequenz des gefüllten Resonators in Hz. Die zweite Messgröße ist die Vergrößerung der Halbwertsbreite der Resonanz B in Hz:

$$B = w_m - w_0 \tag{2}$$

wobei w_0 der Halbwertsbreite der Resonanz des leeren Resonators in Hz und w_m der Halbwertsbreite der Resonanz des gefüllten Resonators in Hz entspricht. Aus diesen beiden Messwerten erfolgt die Berechnung eines dichte- bzw. masseunabhängigen Mikrowellen-Feuchte-Wertes Φ zu

$$\Phi = \frac{B}{A} \qquad \text{bzw.} \qquad \Phi = \arctan \frac{B}{A} \tag{3}$$

Da die beiden Messwerte A und B in gleicher Weise von der Dichte bzw. der Masse des Messgutes abhängen, ist der Quotient B/A dichte- bzw. masseunabhängig. Er hängt nur von dem Feuchtegehalt des Messgutes ab. Die Bildung des Arkustangens dieses Quotienten kann erfolgen, um den Wertebereich des dimensionslosen Mikrowellen-Feuchte-Wertes Φ auf $\Phi \in [0, 1]$ zu reduzieren.

Der Mikrowellen-Feuchte-Wert Φ ist also die geeignete Größe zu Kalibration einer dichtebzw. masseunabhängigen Feuchtemessung. In den meisten Fällen kann ein linearer Zusammenhang zwischen Φ und der Materialfeuchte *F* angenommen werden

$$F = a_1 \cdot \Phi + a_2 \tag{4}$$

mit den Kalibrationskoeffizienten a_1 und a_2 . Die Materialfeuchte wird in % w.b. (wet basis) berechnet. In Bereichen sehr hoher oder niedriger Feuchten oder bei der Messung spezieller Messgüter kann ein nichtlinearer Zusammenhang zwischen F und Φ vorliegen. In diesem Fall muss eine andere Kalibrationsfunktion verwendet werden.

Da die Messung der Veränderung der beiden Resonanzparameter (Resonanzfrequenz f und Halbwertsbreite w) masse- bzw. dichteabhängig ist, kann eine zusätzliche Dichte- bzw. Massemessung erfolgen. Diese Dichte- bzw. Massemessung kann unabhängig von der Materialfeuchte erfolgen.

Kalibration der Getreidemessung

Wie sich im Verlauf des Projektes zeigte, ist im Falle der Feuchtemessungen in Getreide eine polynomische Beziehung zweiter Ordnung zwischen Materialfeuchte und dem Mikrowellen-Feuchtewert Φ am geeignetsten (Schlemm *et al.* 2008). Gleichung (5) zeigt eine Kalibrationsbeziehung, die die Produkttemperatur nicht berücksichtigt:

$$F = a_1 \cdot \Phi^2 + a_2 \cdot \Phi + a_3 \tag{5}$$

In Gleichung (5) sind a_i wiederum die Kalibrationskoeffizienten. Eine Feuchtekalibration kann außerdem über die Verschiebung der Resonanzfrequenz A oder die Vergrößerung der Halbwertsbreite B erfolgen. Eine solche Feuchtemessung ist allerdings nicht unabhängig von der Masse bzw. der Dichte des jeweiligen Messgutes.

Gleichung (6) zeigt eine Kalibrationsbeziehung zur Feuchtemessung über die Verschiebung der Resonanzfrequenz A zu

$$F = b_1 \cdot A + b_2 \tag{6}$$

mit den Kalibrationskoeffizienten b_i und der Verschiebung der Resonanzfrequenz A in MHz. Bei stark schwankenden Produkttemperaturen, die bei einem Trocknungsverfahren vorkommen können, muss die Produkttemperatur gemessen und bei der Kalibration berücksichtigt werden. So wird aus Gleichung (5) die folgende Beziehung

$$F = a_1 \cdot \Phi^2 + a_2 \cdot \Phi + a_3 \cdot \Phi \cdot T + a_4 \cdot T + a_5 \tag{7}$$

Hierin bedeuten a_i die Kalibrationskoeffizienten und T die Produkttemperatur in °C. Beziehung (8) ist die der Gleichung (6) entsprechende temperturabhängige Kalibrationsbeziehung

$$F = b_1 \cdot A + b_2 \cdot T + b_3 \tag{8}$$

mit den Kalibrationskoeffizienten b_i und der Verschiebung der Resonanzfrequenz A in MHz.

II.1.1.2. Test verschiedener Resonatoren

Für die Anwendung der Getreidemessung im Trockner wurden zunächst Standardresonatoren der Fa. TEWS Elektronik erprobt. Für den Einbau in einen Getreidetrockner kommen als Streufeldsensoren nur planare Sensoren in Frage, da Koaxialsensoren ein zu kleines Messfeld aufweisen und der Einsatz von Hohlraumresonatoren für diese Messstelle ausgeschlossen ist. Verschiedene planare Sensoren der Fa. TEWS Elektronik sind in Bild 3 zu sehen. Diese Sensoren unterscheiden sich hinsichtlich des Durchmessers des Messfeldes, ihrer Empfindlichkeit und ihres Abstrahlverhaltens (Abstrahlung muss bei dem Mikrowellen-Resonatorverfahren vermieden werden). Es erfolgten also Testmessungen mit verschiedensten Sensoren an Weizen in einem weiten Feuchtebereich. Als geeignetste Sensoren wurden die beiden folgenden ausgewählt:

- 1. Sensor P66/50: Planarer Resonator mit geringerem Felddurchmesser, der sehr abstrahlresistent und deshalb zur Messung auch von sehr feuchtem Messgut geeignet ist
- 2. Sensor P145/180: Planarer Resonator mit größerem Felddurchmesser, der sehr empfindlich ist (großes Messsignal) und trotzdem eine gute Abstrahlresistenz aufweist.



Bild 3: Planare Sensoren der Fa. TEWS Elektronik

I.1.1.3. Kalibrationsmessungen an unterschiedlichen Getreidearten

Die Sensorkalibration wurde an den Messgütern Weizen, Mais, Gerste, Roggen, Hafer und Triticale durchgeführt. Weizen ist in Mitteleuropa die wichtigste Getreideart. Deshalb wurde der Focus der Untersuchungen auf dieses Material gelegt, an dem die meisten Messreihen durchgeführt wurden. Die umfangreichen Kalibrationsmessungen zur Kompensation der Guttemperatur erfolgten daher ebenfalls schwerpunktmäßig am Beispiel Weizen.

Probenvorbereitung

Vor den jeweiligen Kalibrationsmessungen wurden vom ATB Materialproben beschafft, wobei ausschließlich erntefeuchtes Getreide als Ausgangsmaterial zum Einsatz kam. Es wurden Proben von ca. 2 kg Masse entnommen, die anschließend durch Trocknung bzw. Befeuchtung jeweils in einem weiten Feuchtebereich präpariert wurden (Kocsis & Vashishtha 2007; Kocsis *et al.* 2008a).

Die präparierten Proben wurden in luftdicht verschließbaren 5I-Behältern gelagert. Bei den rund 2 kg Probenmasse, die für die Kalibrationsmessungen benötigt wurden, waren die Behälter etwa zur Hälfte mit Material gefüllt. Dies hatte insbesondere bei der Befeuchtung den Vorteil, dass die Proben von Hand ausreichend geschüttelt und dadurch durchmischt werden konnten. Diese Durchmischung, die etwa alle 3-6 Stunden wiederholt wurde, war notwendig, um eine homogene Feuchteverteilung in der Probe zu erhalten. Die Befeuchtungsdauer betrug 48 Stunden. Die zu trocknenden Proben wurden einzeln im Trockenschrank behandelt. Dazu wurde die jeweilige Probe in flachen Petrischalen zu dünnen Schichten ausgebreitet und getrocknet. Die Gewichtsdifferenz wurde mehrfach überprüft.

Die Wassermenge, die einer einzelnen Probe durch Befeuchtung zuzuführen bzw. durch Trocknung aus der Probe abzuführen war, lässt sich nach folgender Gleichung ermitteln

$$\Delta M_{H_2O} = M_{G,0} \cdot \frac{F_1 - F_0}{1 - F_1} \tag{9}$$

Mais					
Anfangs- masse	$M_{_{G,0}}$ [kg]	2,2			
Anfangs- feuchte	$F_0 \ \mbox{[\% w.b.]}$	16,23			
Probe Nr.	Zielfeuchte	Zielfeuchte	Wassermasse	Behandlung	Gutfeuchte
	$F_1 $ [% w.b.]	F_1 [kgH2O/kg]	$\Delta M_{_{H2O}}$ [kg]		F_1 [% w.b.]
1	7	0,07	-0,21834409	Trocknung	8,875
2	10	0,10	-0,15228889	Trocknung	8,743
3	13	0,13	-0,08167816	Trocknung	10,223
4	16,23	0,1623	0	keine	15,979
5	20	0,20	0,103675	Befeuchtung	19,297
6	24	0,24	0,22492105	Befeuchtung	23,743
7	28	0,28	0,35963889	Befeuchtung	28,040
8	32	0,32	0,51020588 Befeuchtung		31,612
9	36	0,36	0,67959375	Befeuchtung	34,742
10	40	0,40	0,87156667	Befeuchtung	-

Tabelle 1: Ergebnisse der Probenvorbereitung am Beispiel Mais

Tabelle 1 zeigt die Ergebnisse der Probenvorbereitung am Beispiel von Mais. Als Ausgangsmaterial wurde naturtrockener Mais, der durch Lufttrocknung am Maiskolben getrocknet und gedroschen wurde, verwendet. Die Anfangsfeuchte lag bei $F_0 = 16,23\%$ w.b. (Probe Nr. 4). Nach der Probenvorbereitung wurde eine Gutfeuchteverteilung zwischen 8,9% w.b. und 34,7% w.b. erzielt. Probe Nr. 10 wurde verworfen, da das Wasser (ca. 872 g) von dieser Probe nicht vollständig aufgenommen wurde. Die Werte in der rechten Spalte der Tabelle kennzeichnen die nach der Probenvorbereitung bzw. zu Beginn der Kalibrationsversuche vorliegenden Gutfeuchten. Wie Tabelle 1 verdeutlicht, wurden bei der Befeuchtung bessere Ergebnisse erzielt als bei der Trocknung. Das heißt, die Abweichungen zwischen Zielfeuchte und tatsächlich erreichter Gutfeuchte sind wesentlich geringer. Während sich die Wassermasse zur Befeuchtung gemäß Gleichung (9) genau bestimmen lässt, ist die Kontrolle des Wasserentzuges bei der Trocknung schwierig und erfordert viel Routine vom Experimentator.

Durchführung der Kalibrationsmessungen

Vor den Kalibrationsmessungen wurde das Material auf die planaren Sensoren geschüttet. Es wurde jeweils die Verschiebung der Resonanzfrequenz A und der Mikrowellen-Feuchtewert Φ gemessen. Jede Materialprobe wurde dreimal vermessen, wobei die Lage des Getreides auf dem Sensor durch Schütteln variiert wurde. Von jeder Materialprobe wurde eine Rückstellprobe (ca. 200 g) für die Referenzfeuchtebestimmung gezogen. Die Mikrowellenmessungen wurden mit den Ergebnissen der Referenzmessungen verglichen.

Referenzmessungen nach der Trockenschrankmethode

Die Referenzfeuchten wurden im Labor des ATB jeweils nach DIN 10350 bzw. ISO 712 (ISO 1998) für Getreide und ISO 6540 (ISO 1980) für Mais ermittelt. Entsprechend den Standards wurde jede Referenzmessung als Doppelbestimmung ausgeführt. Das Mahlen der Proben erfolgte nach Empfehlungen der DLG-Prüfstelle und der Firma Pfeuffer mit einer Labormühle vom Typ Perten Laboratory Mill 3303, mit der die geforderten Mahlfeinheiten erreicht werden konnten. Bei Gutfeuchten oberhalb von 17% w.b. bei Getreide sowie oberhalb von 15% w.b. bei Mais wurden die Proben vorbehandelt und auf Feuchten unterhalb dieser Werte vorgetrocknet. Erst danach erfolgte das Feinmahlen dieser Proben. Die gemahlenen Proben wurden anschließend im Trockenschrank nach den Vorgaben der Standards getrocknet, siehe Tabelle 2. Die Trockenschrankmessungen wurden von der AG Analytik der Abteilung Bioverfahrenstechnik übernommen.

Standard	Gutart	Probenmasse * (Mahlgut)	Trocknungs- temperatur	Trocknungs- dauer	Vorbe- handlung **
ISO 712	Getreide	2 x ca. 5 g	130-133°C	2 h	> 17% w.b.
ISO 6540	Mais	2 x ca. 8 g	130-133°C	4 h	> 15% w.b.

abelle 2: Feuchtebestimmung im Trockenschrank bei Getreide und Mais nach ISO-Standards
--

* Doppelbestimmung; Nachbestimmungen wenn $\Delta F > \pm 0,1\%$ w.b.

** Vortrocknung unter die genannten Werte

Ergebnisse der Kalibrationsmessungen

Insgesamt wurden an den Getreidearten Weizen, Mais, Gerste, Roggen, Hafer und Triticale 12 Messreihen über einen jeweils breiten Gutfeuchtebereich durchgeführt. Nachfolgend werden die Ergebnisse der Kalibrationsmessungen beispielhaft für das Messgut Weizen dargestellt.

- Weizen ohne Berücksichtigung der Temperatur

Für diese Kalibrationsmessungen wurde ein planarer Sensor des Typs TEWS P145/180 verwendet. Als Versuchsgut dienten Proben von naturfeuchtem Weizen, die zwei Getreidechargen unterschiedlicher Feuchte von ca. 15% w.b. bzw. 18% w.b. entnommen wurden. Durch Trocknung und Befeuchtung einzelner Proben ist der Feuchtebereich auf 7% w.b. bis 29% w.b. erweitert worden. Die Kalibration wurde durch wiederholte Messungen an ruhendem Produkt durchgeführt. Es wurden jeweils die Verschiebung der Resonanzfrequenz A und der Mikrowellen-Feuchtewert Φ gemessen. Bilder 4 und 5 zeigen die Mittelwerte der gemessenen Mikrowellen-Feuchtewerte Φ und der Verschiebungen der Resonanzfrequenz A aller Messungen in Abhängigkeit von der Feuchte des Messgutes.

Bild 4 zeigt die Mittelwerte der Mikrowellen-Feuchtewerte Φ in Abhängigkeit von der Feuchte des Messgutes. Da diese Werte ein Maximum bei einer Feuchte von ca. 21% w.b. aufweisen, ist eine Feuchtemessung über den Mikrowellen-Feuchtewert Φ nur bis zu einer Feuchte von ca. 19% w.b. möglich. Das Maximum resultiert aus den dielektrischen Eigenschaften des feuchten Weizens, ist also durch Materialeigenschaften des Messgutes bedingt. Nach einem Durchlauf des Getreides durch den Trockner wird der Feuchtegehalt des Messgutes einen Wert von 19% w.b. nicht übersteigen. Am Austrag des Trockners ist deshalb die dichte- bzw. masseunabhängige Feuchtemessung über den Mikrowellen-Feuchtewert Φ einsetzbar. Höhere Feuchtegehalte treten dagegen am Guteintrag des Trockners auf. Hier ist eine alleinige Feuchtemessung über den Mikrowellen-Feuchtewert Φ nicht möglich.

Im Bild 5 sind die Mittelwerte der Verschiebungen der Resonanzfrequenz A in Abhängigkeit von der Feuchte des Messgutes dargestellt. Eine Feuchtemessung über die Verschiebungen der Resonanzfrequenz A ist im gesamten betrachteten Feuchtebereich von 7 - 29% w.b. möglich. Diese Feuchtemessung ist allerdings masse- bzw. dichteabhängig.



Bild 4: Kalibrationsmessungen: Mikrowellen-Feuchtewert Φ in Abhängigkeit von der Feuchte



Bild 5: Kalibrationsmessungen: Verschiebung der Resonanzfrequenz A als Funktion der Feuchte



Bild 6: Kalibrationsmessungen: Ergebnis der Feuchtemessung, SD = 0,51%

Für die Messung am Eintrag eines Getreidetrockners sind die beiden Möglichkeiten der Feuchtemessung kombinierbar. Für Verschiebungen der Resonanzfrequenz *A* bis zu 60 MHz (entspricht ca. 18% Feuchte, siehe Bilder 4 und 5) kommt Beziehung (5) zur Anwendung, für Verschiebungen der Resonanzfrequenz *A* über 60 MHz hinaus Beziehung (6). Bild 6 zeigt das Ergebnis dieser Kombination. Die Standardabweichung SD zwischen den Feuchte-Referenzwerten und den durch Mikrowellenmessung bestimmten Feuchtewerten beträgt SD = 0,51% für den gesamten Feuchtebereich (7 - 29%). Die Standardabweichung SD für die dichteunabhängige Feuchtemessung (Beziehung (5)) bis zu einem Feuchtegehalt von 18% beträgt SD = 0,39%, für die dichteabhängige Feuchtemessung (Beziehung (6)) oberhalb von 17% Feuchte SD = 0,63%. Diese Ergebnisse wurden trotz Variation der Getreidedichte auf dem Sensor erreicht.

- Weizen mit Berücksichtigung der Temperatur

Die temperaturabhängigen Feuchtemessungen wurden für die favorisierten planaren Mikrowellenresonatoren P145/180 und P66/50 kalibriert. Es erfolgten Versuche an Weizen mit Feuchten von 12% w.b. bis 25% w.b. und Temperaturen von 11°C bis 55°C. Zur Messung der Temperatur des Messgutes wurde ein Infrarot-Temperatursensor verwendet. Wie bereits gezeigt, sind für die beiden Sensoren P145/180 und P66/50 zwei Kalibrationsbeziehungen für verschiedene Feuchtebereiche notwendig.

Für den planaren Sensor P145/180 wurden die folgenden Ergebnisse erzielt. Für Feuchtegehalte F von 12 - 18% w.b. gilt die folgende Beziehung (10):

$$F = -7,0356 \cdot \Phi^2 + 15,4980 \cdot \Phi + 1,9038 \cdot \Phi \cdot T - 0,7396 \cdot T + 10,6693$$
(10)

Korrelationskoeffizient: R^2 = 0,960, Standardabweichung SD = 0,65% w.b. Für Feuchtegehalte u von 18% bis 25% gilt die folgende Beziehung (11):

$$F = 0.1250 \cdot A - 0.0513 \cdot T + 8.8976 \tag{11}$$

Korrelationskoeffizient: $R^2 = 0,645$, Standardabweichung SD = 0,53% w.b.

Die Kalibrationsbeziehungen gelten für Weizen mit Temperaturen von 11° C bis 55°C. Die Standardabweichung über den gesamten Feuchtebereich beträgt SD = 0,62% w.b.



Bild 7: Feuchtemessung mit Kompensation der Produkttemperatur, Sensor P145/180

Für den planaren Sensor P66/50 wurden die folgenden Ergebnisse erzielt. Für Feuchtegehalte u von 12% bis 18% gilt die folgende Beziehung (12):

$$F = -9,7818 \cdot \Phi^2 + 40,4469 \cdot \Phi + 1,3195 \cdot \Phi \cdot T - 0,5006 \cdot T + 2,3156$$
(12)

Korrelationskoeffizient: R^2 = 0,992, Standardabweichung SD = 0,31% w.b.

Für Feuchtegehalte u von 18% bis 25% gilt die folgende Beziehung (13):

$$F = 2,1732 \cdot A - 0,1381 \cdot T + 10,0023 \tag{13}$$

Korrelationskoeffizient: $R^2 = 0,991$, Standardabweichung SD = 0,19% w.b.

Die Kalibrationsbeziehungen gelten für Weizen mit Temperaturen von 11° C bis 55°C. Die Standardabweichung über den gesamten Feuchtebereich beträgt SD = 0,27% w.b.



Bild 8: Feuchtemessung mit Kompensation der Produkttemperatur, Sensor P66/50

Zu den Ergebnissen der Kalibrationsmessungen für die Getreidearten Mais, Gerste, Roggen, Hafer und Triticale siehe (Tews *et al.* 2009).

II.1.1.4. Entwicklung neuer Sensoren - Erweiterung des Messbereichs

Ziel der Entwicklung neuer Streufeldsensoren für den Einsatz im Getreidetrockner war eine deutliche Erweiterung des messbaren Feuchtebereichs für Getreide. Diese Entwicklung muss unter Berücksichtigung der dielektrischen Eigenschaften feuchten Getreides erfolgen. Wichtiges Instrument zur Neuentwicklung von Sensoren ist die numerische Simulation der elektrischen Felder. Hierzu kam das Finite-Elemente-Programm HFSS (Fa. Ansoft) zum Einsatz. Bild 9 zeigt die simulierte Verteilung des elektrischen Feldes auf der Oberfläche eines planaren Sensors. Maxima und Minima des elektrischen Feldes sind auf einem Kreisring angeordnet. Diese Anordnung führt zur Vermeidung von Abstrahlung, da sich die einzelnen Feldanteile im Fernfeld auslöschen.

Unter Berücksichtigung der dielektrischen Eigenschaften feuchten Getreides ist es möglich, Feldanordnungen zu schaffen, unter deren Verwendung zur Feuchtemessung das auftretende Maximum zu höheren Feuchten verschoben werden kann. Somit ist es möglich, den messbaren Bereich für die dichteunabhängige Feuchtebestimmung auszudehnen. Im Falle der Getreidemessung ist dieses sehr effektiv, da die in der Praxis vorliegende maximale Feuchte des Getreides in den meisten Fällen im Bereich des bei den Standardsensoren auftretenden Maximums liegt.



Bild 9: Simulierte Verteilung des elektrischen Feldes auf der Oberfläche eines Planarsensors

Im Verlauf des Projektes wurden zahlreiche Simulationen durchgeführt und verschiedene Sensoren konstruiert, gebaut und erprobt. Bild 10 zeigt den Prototypen des Sensors P66/50/4, der die besten Messeigenschaften aufwies. Die im Folgenden präsentierten Feuchtemessungen im erweiterten Messbereich sind mit diesem Sensor aufgenommen worden.



Bild 10: Prototyp des Sensors P66/50/4 für den erweiterten Feuchtemessbereich

Messungen an Weizen

Bild 11 zeigt den mit dem Sensor P66/50/4 gemessenen Mikrowellen-Feuchtewert Φ in Abhängigkeit von der Feuchte bei der Messung an Weizen. Es wurde ein Polynom 3. Grades angepasst. Aus den Fit-Parametern ergibt sich die Position des Maximums im Feuchtespektrum. Das Maximum liegt bei Verwendung des neuen Sensors P66/50/4 erst bei einer Feuchte von etwa 28% w.b.



Bild 11: Weizen: Mikrowellen-Feuchtewert Φ als Funktion der Feuchte, Sensor P66/50/4

Die dichteunabhängige Feuchtemessung ist mit den klassischen Sensoren bis zu Feuchten von ca. 19% w.b. möglich. Mit dem neuen Sensor P66/50/4 kann dagegen die Feuchte dichteunabhängig bis ca. 24,5% w.b. gemessen werden.

Die Lage des Maximums, die den möglichen dichteunabhängigen Messbereich begrenzt, ist von der Temperatur der Probe abhängig. Es wurden deshalb temperaturabhängige Messungen an Weizen mit Feuchten von 12 - 25% w.b. und Temperaturen von 11 - 55°C durchgeführt, wie auch mit den herkömmlichen Sensoren (siehe oben).

Wie Bild 12 zeigt, schränkt eine Erhöhung der Produkttemperatur den messbaren Feuchtebereich ein. Die Sättigungsfeuchte sinkt bei Erhöhung der Guttemperatur bei den niedrigen Frequenzen um ca. 1,5% w.b. / 10°C und bei der hohen Frequenz um ca. 2% w.b. / 10°C. Für den neuen Sensor P66/50/4 wurde die Lage des Maximums bei 30°C zu 22% w.b. und bei 45°C zu 19 – 20% w.b. ermittelt.



Bild 12: Lage des Maximums über der Guttemperatur für die drei verwendeten Sensoren

Dennoch kann die Feuchtemesstechnik in jedem Bereich eines handelsüblichen Getreidetrockners eingesetzt werden. Bild 13 zeigt einen Dächerschachttrockner ,Durchlauftrockner Typ WS' der Firma PETKUS als Beispiel einer Installationsumgebung der Feuchtesensorik. Über der Höhe ist auch die typische Guttemperatur aufgetragen. Am Ende der Trocknungszone wird eine Maximaltemperatur von ca. 45°C erreicht.



Bild 13: Dächerschachttrockner, Durchlauftrockner Typ WS' der Firma PETKUS als Beispiel einer Installationsumgebung der Gutfeuchte- und Guttemperatur-Messtechnik über der Höhe

In Bild 14 sind die Lagen des Maximums für diese drei Trocknerzonen noch einmal zusammengestellt. Am Ende der Trocknungszone und am Auslass liegen maximale Gutfeuchten vor, die mit den herkömmlichen Sensoren der Fa. TEWS Elektronik sehr gut erfasst werden können. Am Eingang kann mit den neuen Sensoren gearbeitet werden. Die Mikrowellen-Feuchtemesstechnik lässt sich also im gesamten Feuchte- und Temperaturspektrum eines Getreidetrockners einsetzen.



Sättigungsfeuchte über der Guttemperatur

Bild 14: Lage der Maxima in den verschiedenen Einbausituationen am Trocknereintrag, dem Ende der Trocknungszone und am Trockneraustrag

Zu den Ergebnissen für die anderen Getreidearten wird auf den Abschlussbericht der Fa. TEWS Elektronik verwiesen (Tews *et al.* 2009).

II.1.1.5. Sensortestung am ATB-Dächerschachttrockner

Nach der Kalibration erfolgte ein Praxistest der Feuchtemessung am halbtechnischen Dächerschachttrockner des ATB (Bild 21) bei der Trocknung von Weizen (Schlemm *et al.* 2008). Es wurde ein ca. neunstündiger Dauerbetrieb des Trockners messtechnisch begleitet, wobei das in den Trockner eingetragene Material aus zwei verschiedenen Getreidechargen stammte, die unterschiedliche Feuchten von ca. 15% w.b. bzw. 18% w.b. aufwiesen. Die Materialfeuchte wurde mit Mikrowellenresonatoren am Trocknereintrag und -austrag gemessen und stichprobenartig durch Ofentrocknung überprüft. Am Trocknereintrag lagen die gemessenen Feuchten im Bereich 10 - 18% w.b., am Trockneraustrag bei 10 - 16% w.b. Die niedrigen Feuchtewerte sind auf den Anfahrprozess des Trockners mit bereits getrocknetem Getreide vom Vorversuch und das Nachfüllen von trockenem Getreide gegen Ende des Versuches zurückzuführen.

Am Eingangsbereich des Trockners wurde einerseits mit dem Mikrowellensensor P145/180 gemessen und andererseits mit dem neuen Sensor P66/50/4. Am Ausgang des Trockners wurde mit dem Standardsensor P66/50 gemessen, da hier nur niedrige Materialfeuchten erwartet wurden.

Es konnten sehr gute Eigenschaften der Mikrowellenmessung im Technikumsmaßstab am ATB-Getreidetrockner für die Standardsensoren und die neuen Sensoren gezeigt werden. Im Bild 15 und 16 sind die Messergebnisse am Trocknereintrag als Vergleich der Referenzmessungen zu den Mikrowellenmessungen für die Messungen mit dem Standardsensor P145/180 dargestellt. Bilder 17 und 18 zeigen die entsprechenden Ergebnisse mit dem neuen Sensor P66/50/4. Die ermittelten Standardabweichungen zwischen Referenz- und Mikrowellenmessungen sind gleich groß und betragen SD = 0,22% w.b. Es lag allerdings kein sehr feuchtes Getreide vor, das die Messung mit einem Sensor neuen Typs nötig gemacht hätte.



Bild 15: Messungen am Trocknereintrag mit dem Sensor P145/180, SD = 0,22% w.b.



Bild 16: Messungen am Trocknereintrag mit dem Sensor P145/180, SD = 0,22% w.b.



Bild 17: Messungen am Trocknereintrag mit dem Sensor P66/50/4, SD = 0,22% w.b.

Feuchte-Feuchte-Diagramm



Bild 18: Messungen am Trocknereintrag mit dem Sensor P66/50/4, SD = 0,22% w.b.



Bild 19: Messungen am Trockneraustrag mit dem Sensor P66/50, SD = 0,55% w.b.



Bild 20: Messungen am Trockneraustrag mit dem Sensor P66/50, SD = 0,55% w.b.

Bilder 19 und 20 zeigen die Ergebnisse am Trockneraustrag, die mit dem Standardsensor P66/50 erzielt wurden. Bei den Versuchen wurde eine starke Inhomogenität der Getreidefeuchte über den Querschnitt des Auslasses des Trockners festgestellt. Da das durch den Mikrowellenresonator erfasste Messgut im allgemeinen nicht dasselbe war, wie das, welches für die Referenzmessung verwendet wurde (u.a. bedingt durch die Probenahme), ergab sich eine größere Abweichung zwischen Mikrowellenmessungen und Referenzmessungen am Trockneraustrag als am Trocknereintrag. Die Standardabweichung beträgt deshalb am Trockneraustrag SD = 0,55% w.b.

II.1.1.6. Zusammenfassung

Für die Anwendung der Getreidefeuchtesensoren im Trockner wurden zunächst planare Standardresonatoren der Fa. TEWS Elektronik erprobt. Diese Sensoren unterscheiden sich hinsichtlich des Durchmessers des Messfeldes, ihrer Empfindlichkeit und ihres Abstrahlverhaltens. Es wurden zwei verschiedene Sensoren ausgewählt. Aufgrund des Auftretens eines Maximums bei den Mikrowellen-Feuchtemesswerten sind diese Sensoren nur am Austrag eines Trockners einsetzbar, aufgrund des hier vorliegenden reduzierten Feuchtebereiches.

Es musste deshalb eine Neuentwicklung von Streufeldsensoren für den Einsatz im Getreidetrockner erfolgen, mit dem Ziel der Eliminierung oder zumindest Entschärfung des Maximum-Effektes der Mikrowellenmessung. Diese Entwicklung wurde erfolgreich durchgeführt. Die Verwendung dieser Sensoren führt zu einer signifikanten Erweiterung des messbaren Feuchtebereiches hin zu höheren Getreidefeuchten. Diese Sensoren können deshalb auch am Eintrag eines Getreidetrockners eingesetzt werden. Die Erweiterung des messbaren Feuchtebereiches konnte für Weizen, Roggen, Gerste, Triticale, Hafer und Mais gezeigt werden. Die Produkttemperatur muss bei dem Einsatz der Sensoren berücksichtigt werden. Die Mikrowellen-Feuchtemesstechnik lässt sich im gesamten Feuchte- und Temperaturspektrum eines Getreidetrockners einsetzen.

Es erfolgten anschließend umfangreiche Sensortests zur Online-Feuchtemessung in Getreidetrocknern. Diese wurden zunächst an einem Trockner im Technikumsmaßstab des ATB an Weizen durchgeführt. In der Ernteperiode 2009 erfolgte außerdem die großtechnische Erprobung an Gerste in einem Getreidetrockner bei einem Kunden der Fa. PETKUS (siehe Kapitel 1.4). Die Sensorentwicklung wurde erfolgreich abgeschlossen.

II.1.2. Modellierung der Schüttgutbewegung im Dächerschachttrockner

Die theoretischen Grundlagen des Prozessmodells zum Dächerschachttrockner wurden bereits im Vorprojekt PSN1 erarbeitet, siehe dazu (Mellmann *et al.* 2005, 2007). Dieses Modell basierte auf der stark vereinfachenden Annahme der Pfropfenströmung (plug-flow) des Schüttgutes und konnte daher nur auf Satztrockner angewendet werden. Mit dem Ziel der Erweiterung des Modells auf leistungsfähige Durchlauftrockner mit hohem Getreidemassenstrom sollte im vorliegenden Vorhaben ein Ansatz für die Partikelbewegung entwickelt werden, das mit dem Prozessmodell verknüpft werden kann.

Nachfolgend wird das Schüttguttransportmodell erläutert. Kern dieses Modells bildet die Diskrete Elemente Methode (DEM). Zur Simulation der Partikelbewegung mittels DEM wurde die kommerzielle Software Particle Flow Code (PFC-2D, PFC-3D) der Firma Itasca in zweiund dreidimensionaler Ausführung angewendet, die aus Mitteln des Projekts finanziert wurde. Zur Modellvalidierung wurden Experimente an der halbtechnischen Versuchsanlage des ATB zur Partikelbewegung und Verweilzeitanalyse durchgeführt. Die Ergebnisse sind unter anderem in (Iroba *et al.* 2010) publiziert worden.

II.1.2.1. Steuerung des Schüttgutmassenstroms im Trocknungsbetrieb

Betriebsarten des Schüttgutflusses

Industrielle Dächerschachttrockner arbeiten quasi-kontinuierlich in der sogenannten unterbrochenen Betriebsweise (*interrupted flow* mode), in der das Getreide in einzelnen Schüben satzweise durch den Trockner geleitet wird. In der überwiegenden Trocknungszeit befindet sich das Getreide in Ruheschichttrocknung, während es in nur kurzen Zeitabschnitten vertikal durch den Trockner bewegt wird, wenn die Austragsvorrichtung am Boden des Trocknerschachtes geöffnet ist. Obwohl dies die in der Praxis vorherrschende Betriebsart ist, lässt sich die Schüttgutbewegung bevorzugt im kontinuierlichen Betrieb des Schüttgutflusses (*continuous flow* mode) untersuchen. Bei dieser theoretischen Betriebsart, die vergleichbar ist mit dem Ausfluss aus einem Silo, ist die Austragsvorrichtung vollständig geöffnet. Das Getreide kann frei und ungehindert ausströmen. Bei dieser Betriebsart wird der maximal mögliche Massenstrom erreicht. Folglich können zwei grundsätzliche Betriebsarten unterschieden werden:

- interrupted flow unterbrochener, quasi-kontinuierlicher Betrieb
- continuous flow kontinuierlicher Betrieb.

In Dächerschachttrocknern existieren drei verschiedene Bewegungsrichtungen des Getreides in Relation zur Luftströmung: Gleich-, Gegen- und Kreuzstrom. Im englischsprachigen Raum wird dieser Trockner daher auch als mixed-flow dryer bezeichnet (Brooker *et al.* 1992; Nellist & Bruce 1995; Mühlbauer 2009).



Bild 21: Foto (a) und Schema (b) der halbtechnischen ATB-Versuchsanlage



Bild 22: Schnittdarstellung (a) und konstruktives Detail (b) des Schlitzbodenaustrags

Funktionsweise der Austragsvorrichtung

Dächerschachttrockner bestehen aus einem vertikalen Trocknerschacht mit überwiegend horizontal angeordneten Luftkanälen für Zuluft und Abluft, siehe Bild 21. Das feuchte Getreide wird mit Hilfe einer Fördereinrichtung in den Vorratsbehälter am oberen Ende des Trockners transportiert, von wo aus es der Schwerkraft folgend vertikal durch den Trockner geführt wird. Am Fuß des Trocknerschachtes befindet sich die Austragsvorrichtung, mit deren Hilfe der Getreidemassenstrom variabel einstellbar ist. Der Luftstrom wird über die Zuluftund Abluftkanäle durch den Trockner geleitet und mit Hilfe eines abluftseitig installierten Saugzuggebläses abgeführt.

Zur satzweisen Austragung des getrockneten Getreides und Steuerung des Massenstroms kommen verschiedene Arten von Austragsvorrichtungen zum Einsatz, wie zum Beispiel der Schlitzbodenaustrag, Pendelaustrag, Klappenaustrag oder der Kippmuldenaustrag (Teodorov 2006). Von den deutschen Trocknerherstellern werden überwiegend pneumatisch betriebene Schieber- bzw. Schlitzboden-Austragssysteme verwendet. Einige Hersteller kombinieren den Schlitzbodenaustrag mit einer zusätzlichen Fördereinrichtung (Kipptrog oder Zellenradschleuse), die unterhalb des Austrags angeordnet ist. Im Folgenden wird der frei auslaufende Schlitzbodenaustrag betrachtet.

Im Bild 22 sind die Schnittdarstellung und ein konstruktives Element des pneumatischen Schlitzbodenaustrags dargestellt, der am ATB-Dächerschachttrockner installiert ist. Die oberen, feststehenden Elemente sind etwa dreieckig im Querschnitt und bilden schmale, längliche Trichter, zwischen denen Schlitze angeordnet sind. Die untere bewegliche Platte besteht aus Quadratrohren und ist in beiden Richtungen (links – rechts) verschiebbar. Durch Vorund Rückbewegung dieser Platte werden die Schlitze freigegeben bzw. geschlossen. Die Schlitzboden-Austragssysteme industrieller Trockner sind prinzipiell ähnlich aufgebaut. Der Neigungswinkel der Auslauftrichter Θ ist jedoch größer ($\Theta < 45^{\circ}$) und die Schlitzbreite *w* höher mit bis zu 0,1 m. Im Unterschied zum Versuchstrockner arbeiten industrielle Schlitzboden-Austragssysteme mit doppelt wirkenden pneumatischen Zylindern, die die Schlitze abwechselnd zu beiden Seiten hin öffnen.

In Dächerschachttrocknern wird der Interrupted flow durch eine zeitliche Abfolge von Öffnungs- und Schließzyklen des Austrags realisiert, siehe Bilder 23 und 24. Zur Regelung der Gutfeuchte am Trockneraustrag wird üblicherweise der Getreidemassenstrom als Stellgröße verwendet und über die Standzeit t_s gesteuert. Die Standzeit ist der Zeitabschnitt zwischen zwei Austrägen und reagiert im Bereich zwischen einer halben Minute bis zu wenigen Minuten. Hierzu wird der Schlitzboden gewöhnlich einmal pro Austragung geöffnet wobei die Austragszeit konstant bleibt. Die Austragszeit t_D ist definiert als die Zeitspanne für einen Austragszyklus (Bild 23). Während dieser Zeit fließt Schüttgut aus. Die Austragszeit variiert im Bereich zwischen Zehntelsekunden und wenigen Sekunden.



Bild 23: Arbeitsschritte eines Öffnungs- und Schließzyklus' des Schlitzbodenaustrags



Bild 24: Zeitliche Abfolge von Bewegungszyklen des Schlitzbodenaustrags

Die einzelnen Arbeitsschritte und Zeitintervalle eines Öffnungs- und Schließzyklus' werden im Bild 23 veranschaulicht. Zum Zeitpunkt t_1 sendet der Steuercomputer das Signal zum Öffnen des Schiebers, der sich an der Startposition 0 befindet. Unter der Voraussetzung, dass die Pneumatikzylinder synchron arbeiten und der Schieber mit konstanter Geschwindigkeit bewegt wird, öffnet der Austrag mit linearer Charakteristik. Zum Zeitpunkt t_2 erreicht der Schieber seine Endposition 1 (vollständig geöffnet), nachdem die Öffnungszeit

$$t_0 = t_2 - t_1 \tag{14}$$

vergangen ist. In Abhängigkeit vom eingestellten Massenstrom vergeht eine bestimmte Wartezeit

$$t_{W} = t_{3} - t_{2} \tag{15}$$

bis der Zeitpunkt t_3 erreicht ist, an dem der Computer das Signal zum Schließen des Schlitzbodens sendet. Unter der Voraussetzung, dass auch der Schließvorgang einer linearen Charakteristik folgt, ist der Schieber zum Zeitpunkt t_4 vollständig geschlossen, wenn er seine Ausgangsposition 0 wieder erreicht hat. Die Schließzeit berechnet sich zu

$$t_C = t_4 - t_3 \tag{16}$$

Unter der Annahme, dass die Pneumatikzylinder in beiden Arbeitsrichtungen die gleiche Charakteristik aufweisen, sind die Öffnungs- und Schließzeiten gleich groß mit

$$t_o = t_c \tag{17}$$

Folglich berechnet sich die Austragszeit zu

$$t_{D} = t_{O} + t_{W} + t_{C} = 2 \cdot t_{O} + t_{W}$$
(18)

die der Dauer eines vollständigen Öffnungs- und Schließzyklus' entspricht. Nach Gleichung (18) lässt sich exakt der Zeitabschnitt ermitteln, in dem tatsächlich Partikel durch die Austragsschlitze fallen. Nur während der Wartezeit t_w können die Körner frei und ungehindert ausfließen. Dagegen durchlaufen sie während der Öffnungs- und Schließzeiten beschleunigte bzw. abgebremste Bewegungsphasen, in denen ein verminderter Ausfluss stattfindet.

In der Praxis sind die Werte der Öffnungs- und Schließzeiten t_o und t_c jedoch unbekannt. Sie können nur mit hohem experimentellen Aufwand gemessen werden. Lediglich die Zeitpunkte t_1 und t_3 sind gegeben, in denen der Computer die Signale zum Öffnen bzw. Schließen des Schiebers an die Pneumatik-Steuereinheit sendet. Entsprechend kann die Austragszeit t_p abgeschätzt werden durch das Zeitintervall

$$t_D = t_3 - t_1 = t_0 + t_W$$
(19)

Dieser Wert kann über die Computersoftware zur Trocknerregelung eingegeben werden; gewöhnlich wird er jedoch durch den Hersteller fest eingestellt und verschlüsselt.

In Gleichung (19) wird nur ein relativ kurzer Zeitabschnitt - die Schließzeit t_c - vernachlässigt, wie ein Vergleich zwischen den Beziehungen (18) und (19) zeigt. Für die Praxis ist die-

se Beziehung jedoch hinreichend genau, da die pro Austragszyklus' ausgetragene Schüttgutmasse mit zunehmender Wartezeit $t_W \ge 0$ direkt proportional zur Austragszeit t_D gemäß Gleichung (19) ansteigt. Dies konnte durch Messung der Austragscharakteristiken verschiedener Getreidepartien am ATB-Versuchstrockner sehr gut nachgewiesen werden, siehe Bild 26.

Die Standzeit t_s umfasst die Ruhezeit t_R - die effektive Standzeit - und die Austragszeit t_D , folglich berechnet sie sich zu

$$t_S = t_R + t_D \tag{20}$$

Dieser Wert entspricht exakt der Zeitdifferenz zwischen zwei Öffnungssignalen des Steuercomputers. Die Standzeit wird zur Steuerung des Getreidemassenstroms verwendet und kann am Computer eingegeben bzw. valiert werden. Im Zahlenbeispiel von Bild 24 beträgt die Standzeit 300 s, die am Versuchstrockner eingestellt war. Dagegen ist die Ruhezeit t_R nur eine rein rechnerische Größe, die der tatsächlichen Zeitdifferenz zwischen zwei Austragszyklen entspricht.

In dieser unterbrochenen Betriebsweise, dem Interrupted flow mode, wird das Getreide satzweise durch den Trockner gefördert. Die aktuelle Zeit dieser quasi-kontinuierlichen Partikelbewegung und, folglich, des Trocknungsprozesses ergibt sich damit zu

$$t = N_D \cdot t_S \tag{21}$$

Hierin kennzeichnet N_D die Anzahl der Austragungen.

Austragscharakteristik und Schüttgutmassenstrom

Partikelbewegung und Massenstrom im Dächerschachttrockner werden maßgeblich beeinflusst durch die Dimensionen (Länge, Breite und Anzahl der Schlitze) und die Betriebsparameter der Austragsvorrichtung. Als Voraussetzung zur Einstellung des Massenstroms und damit der Trocknerleistung muss die Austragscharakteristik bekannt sein.

Steuerung des Massenstroms in der industriellen Praxis

In der industriellen Praxis wird der Trocknerdurchsatz über die Standzeit t_s variiert. Hierzu genügt es, die Schüttgutmasse pro Austragung $M_{s,D}$ für eine bestimmte, vorgegebene Austragszeit zu ermitteln. Obwohl dem Trocknerhersteller die Austragscharakteristik seines Austragssystems bekannt ist, wird dieser Wert üblicherweise vor der Inbetriebnahme jeder Trocknungsanlage gemessen.

Um die Nennleistung des Trockners $M_{s,n}$ zu erreichen, muss die Anzahl der Austragungen (in der Praxis auch Abspeisungen genannt) pro Stunde der aktuellen Prozesszeit kontrolliert werden, die sich berechnet zu

$$N_{D,n} = \frac{\dot{M}_{S,n}}{M_{S,D}} \tag{22}$$

Nach Umstellen von Gleichung (21) ergibt sich damit die nominelle Standzeit aus

$$t_{S,n} = \frac{3600s}{N_{D,n}}$$
(23)

Bei gegebener Schüttgutmasse pro Austrag $M_{s,D}$ und variabler Standzeit t_s lässt sich der Massenstrom und damit die Trocknerleistung berechnen zu

$$\dot{M}_{s} = \frac{M_{s,D}}{t_{s}}$$

Gleichung (24) wird üblicherweise zur Steuerung des Getreidemassenstroms verwendet. Am Beispiel eines Industrietrockners mit einer Nennleistung von $\dot{M}_{s,n} = 30$ t/h für Weizen wurde der Schüttgutmassenstrom nach Gleichung (24) berechnet. Die Schüttgutmasse pro Austrag betrug $M_{s,D} = 500$ kg (Weizen, 14% w.b.). Die Ergebnisse sind in Bild 25 dargestellt.



Bild 25: Schüttgutmassenstrom in Abhängigkeit von der Standzeit am Beispiel eines Industrietrockners für Weizen (14% w.b.)

Wie Gleichung (24) und Bild 25 verdeutlichen, besteht ein nicht-linearer Zusammenhang zwischen Schüttgutmassenstrom und Standzeit, der für die Trocknerregelung nachteilig ist. Wenn der Trockner jedoch in einem schmalen Arbeitsbereich betrieben wird, kann der Kurvenverlauf um den Arbeitspunkt durch eine lineare Funktion approximiert werden.

Steuerung des Massenstroms am Versuchstrockner

Für die Versuche zur Getreidetrocknung und Partikelbewegung am ATB Dächerschachttrockner wurde eine andere Strategie verfolgt. Unter Versuchsbedingungen war es nützlich, den Trockner bei relativ langen und konstanten Standzeiten zu fahren. Diese Vorgehensweise war notwendig, um zwischen zwei Austragungen bestimmte Messungen durchführen oder Proben entnehmen zu können, Sensoren zu wechseln etc. In diesem Falle wurde der Schüttgutmassenstrom über die Austragszeit gesteuert. Voraussetzung dazu war eine detaillierte Messung der Austragscharakteristik.

Bild 26 zeigt beispielhaft die gemessenen Austragscharakteristiken des ATB-Versuchstrockners für zwei unterschiedliche Weizenpartien mit 12,0% w.b. und 18,2% w.b. Gutfeuchte. Die zweite Charge war erntefrisches Getreide. Die Grafik verdeutlicht, dass beide Messreihen einen linearen Zusammenhang zwischen Schüttgutmasse und Austragszeit offenbaren. Bei dem trockenen Weizen (12% w.b.) wurden etwas höhere Austragsraten erzielt. Die Ursache liegt in der geringeren Reibung der trockenen Körner an den Trocknerwänden im Vergleich zum feuchteren Getreide.



Bild 26: Austragscharakteristik des Versuchstrockners: Schüttgutmasse als Funktion der Austragszeit für zwei unterschiedliche Weizenpartien

Anhand detaillierter Messungen der Austragscharakteristik im unteren Bereich der Austragszeit 0 < t_D < 400 ms wurde abgeschätzt, dass der Schlitzbodenaustrag des Versuchstrockners bei etwa t_D = 300 ms erstmals vollständig geöffnet ist mit t_W = 0 entsprechend Fall 2 im Bild 24. Oberhalb dieses Wertes verlaufen die gemessenen Austragscharakteristiken streng linear, wie Bild 26 zeigt.

Auf Basis der gemessenen Austragscharakteristik $M_s(t_D)$ lässt sich durch Anwendung der Gleichung (24) der Schüttgutmassenstrom berechnen zu

$$\dot{M}_{S} = \frac{M_{S}(t_{D})}{t_{S}}$$
(25)

Am Beispiel des trockenen Weizens mit einer Gutfeuchte von 12% w.b. wurde folgende Beziehung für die Austragscharakteristik

$$M_{\rm s} = 11.70 \cdot t_{\rm D} - 0.9693 \tag{26}$$

durch lineare Regression der Messwerte im Bereich 700 ms $\leq t_D \leq$ 2.000 ms ($R^2 = 0,9998$) ermittelt. Nach Einsetzen von Gleichung (26) in (25) folgt

$$\dot{M}_{s} = 11.70 \cdot \frac{t_{D}}{t_{s}} - \frac{0.9693}{t_{s}}$$
(27)

Gleichung (27) wurde zur Vorausberechnung des Schüttgutmassenstroms für Weizen (12% w.b.) angewendet. Bei konstanter Standzeit $t_s = konst$. liefert auch diese Beziehung einen linearen Zusammenhang.



Bild 27: Schüttgutmassenstrom des Versuchstrockners in Abhängigkeit von der Austragszeit für Weizen (12% w.b.) bei einer Standzeit von 300 s

Bild 27 veranschaulicht das Ergebnis. Bei einer fest eingestellten Standzeit von 300 s variierte der Betriebsbereich des Versuchstrockners zwischen 100-200 kg/h. Die Verwendung einer linearen Charakteristik in Abhängigkeit von der Austragszeit, wie im Bild 27 gezeigt, wäre auch in der industriellen Praxis möglich und hätte entscheidende Vorteile für die Trocknerregelung im Gegensatz zur gängigen Praxis gemäß Gleichung (24), siehe Bild 25.

II.1.2.2. Grundlegende Gleichungen zur Partikelbewegung

Die Partikelbewegung in Dächerschachttrocknern wird beeinflusst durch die Apparategeometrie, Betriebsparameter und die physikalischen Eigenschaften der Schüttung. Die Apparategeometrie umfasst die Dimensionen des Trocknerschachtes, die Geometrie, Anordnung und Zuordnung der Luftkanäle sowie die Abmessungen der Austragsvorrichtung. Zu den Betriebsparametern zählen die Austragszeit und die Standzeit. Unter realen Bedingungen der Trocknung zählen dazu weitere Einflussgrößen wie die Trocknungstemperatur, der Luftvolumenstrom und die relative Zuluftfeuchte. Da hier der "kalte" Partikelstrom betrachtet und untersucht wird, werden diese im Folgenden vernachlässigt.

Die relevanten Schüttguteigenschaften umfassen die Partikelform, Partikelgröße, Schüttdichte, physikalische Dichte, Reibungskoeffizienten Partikel-Partikel und Partikel-Wand sowie das Elastizitätsmodul. Eine wichtige Schüttguteigenschaft ist die Gutfeuchte, die sich im Verlauf der Trocknung ändert und ihrerseits die anderen Partikeleigenschaften beeinflusst. Nachfolgend werden Partikel konstanter Feuchte betrachtet.

Interrupted flow

Die Funktionsweise des Schlitzbodenaustrags und die Möglichkeiten zur Steuerung des Schüttgutmassenstroms für die praxisrelevante unterbrochene Betriebsweise (interrupted flow) wurden oben bereits beschrieben. Gemäß Gleichungen (20) und (21) berechnet sich die aktuelle Prozesszeit der Trocknung und damit der quasikontinuierlichen Schüttgutbewegung zu

$$t = N_D \cdot (t_R + t_D) \tag{28}$$

Der Schwerkraft folgend, bewegen sich die Getreidekörner überwiegend in vertikaler Richtung durch den Trocknerschacht. Die vertikale Geschwindigkeit eines Partikels an einer bestimmten Position ergibt sich zu

$$v_P = \frac{y}{t} \tag{29}$$

wobei *y* die zurückgelegte vertikale Distanz (Bild 21b) und *t* die dabei verstrichene Zeitspanne charakterisieren. Aus der Geschwindigkeitsverteilung über dem Apparatequerschnitt A_D lässt sich der Schüttgutmassenstrom berechnen zu

$$\dot{M}_{S} = \rho_{b} \cdot \int_{A} v_{P} \cdot dA \tag{30}$$

Für den Schüttgutmassenstrom im interrupted flow wurde folgende, für den Schlitzbodenaustrag gültige Beziehung hergeleitet (Mellmann & Teodorov 2010)

$$\dot{M}_{S,\text{int}} = \dot{M}_{S,\text{cont}} \cdot \frac{t_D}{t_S} + \frac{b}{t_S}$$
(31)

Der Term *b* in Gleichung (31) kennzeichnet einen Korrekturfaktor, der das Öffnen und Schließen der Austragsvorrichtung berücksichtigt, wodurch der Massenstrom geringfügig reduziert wird (*b* < 0). Gleichung (31) verdeutlicht, dass der Schüttgutmassenstrom im interrupted flow $\dot{M}_{s,int}$ einen Bruchteil des maximalen Massenstroms im continuous flow $\dot{M}_{s,cont}$ ausmacht. Deren Verhältnis $\dot{M}_{s,int} / \dot{M}_{s,cont}$ entspricht etwa dem der aktuellen Prozesszeiten nach Gleichung (37). In Abhängigkeit von der Art der Ansteuerung des Austragssystems kann der Schüttgutmassenstrom alternativ auch auf Basis experimenteller Befunde gemäß Gleichungen (24) oder (25) ermittelt werden.

Eine erprobte und vielfach angewendete Methode zur Untersuchung von Strömungsvorgängen in verfahrenstechnischen Apparaten ist die Verweilzeitanalyse, bei der unterschiedliche Tracertechniken zum Einsatz kommen. Aus der gemessenen Verweilzeitverteilung (Residence time distribution = RTD) lässt sich die mittlere Verweilzeit berechnen. Aus der Analyse der Verweilzeitverteilungen, die mit geeigneter Tracertechnik an unterschiedlichen Positionen im Apparat ermittelt werden können, lassen sich z.B. Rückschlüsse auf Strömungshindernisse ziehen.

Bezogen auf den Schüttgutfluss im Dächerschachttrockner ist die Verweilzeitverteilung und damit die mittlere Verweilzeit am Trockneraustrag T_m von besonderer Bedeutung, da diese unter optimalen Trocknungsbedingungen gleich der erforderlichen Trocknungsdauer sein sollte. Alternativ kann auch die mittlere hydrodynamische Verweilzeit

$$T_m = \frac{M_H}{\dot{M}_S} \tag{32}$$

gemessen werden, die das Verhältnis aus Schüttgutmasse im Apparat (hold-up) zum Massenstrom unter stationären Bedingungen kennzeichnet.

Aus der mittleren Verweilzeit lässt sich die mittlere hydrodynamische Partikelgeschwindigkeit bestimmen zu

$$\overline{v}_P = \frac{l_{PF}}{T_m} \tag{33}$$

In Gleichung (33) kennzeichnet l_{PF} die mittlere vertikale Weglänge, die die Partikel im Trockner zurücklegen. Im Verweilzeitexperiment am Dächerschachttrockner entspricht diese der Trocknerhöhe $l_{PF} = H$, wenn die Tracerpartikel am Trocknereintrag aufgegeben werden. Schließlich ist auch die Massenstromdichte

$$\dot{m}_{S} = \frac{\dot{M}_{S}}{A_{D,h}}$$
(34)

ein wichtiges Kriterium zur Validierung von Strömungsmodellen, worin $A_{D,h}$ die vom Schüttgut durchströmte Trocknerquerschnittsfläche charakterisiert.

Continuous flow

Der kontinuierliche Schüttgutfluss ist ein Sonderfall des unterbrochenen Betriebs, bei dem die Austragszeit unendlich ist, das heißt die Austragsvorrichtung ist ständig geöffnet und das Schüttgut kann ungehindert und kontinuierlich ausfließen. In diesem Modus lässt sich die Partikelbewegung bevorzugt untersuchen, da sie nur noch von der Apparategeometrie und den Partikeleigenschaften abhängt. In diesem Fall gilt

$$N_D = 1 \quad \text{und} \quad t_R = 0 \tag{35}$$

Gemäß Gleichung (28) ist die aktuelle Prozesszeit definiert als

$$t = t_D \tag{36}$$

Dies bedeutet, dass die aktuelle Zeit der Partikelbewegung im continuous flow nur ein Bruchteil der aktuellen Zeit im interrupted flow ist

$$\frac{t_{cont}}{t_{int}} = \frac{t_D}{t_R + t_D} = \frac{t_D}{t_S}$$
(37)

Im Umkehrschluss bedeutet dies, dass die Partikelgeschwindigkeit im continuous flow das Mehrfache des Wertes für den interrupted flow beträgt, der nach Gleichung (29) berechnet wird.

Basierend auf diesen Erkenntnissen wird angenommen, dass die mittleren Verweilzeiten der Partikel in beiden Betriebsarten im gleichen Verhältnis zueinander stehen wie die aktuellen Zeiten nach Gleichung (37) zu

$$T_{m,cont} = T_{m,int} \cdot \frac{t_D}{t_S}$$
(38)

Wie in (Mellmann & Teodorov 2010) gezeigt werden konnte, lässt sich der Schüttgutmassenstrom am Trockneraustrag für den continuous flow in Analogie zum Siloausfluss überschlägig ermitteln zu

$$\dot{M}_{S,cont} = 1.03 \cdot \rho_b \cdot \sqrt{g} \cdot N_{DS} \cdot (L - k \cdot \delta) \cdot (w - k \cdot \delta)^{1.5} \cdot (\tan \Theta)^{-0.35}$$
(39)

Gleichung (39) wurde verwendet, um den (maximalen) Schüttgutmassenstrom am ATB-Dächerschachttrockner zu berechnen. Für Weizen mit 18,2% w.b. Feuchte (Schüttdichte 783 kg/m³) wurde ein Wert von $\dot{M}_{s,cont} = 11,69$ kg/s ermittelt, der gemessene Wert liegt im Vergleich dazu bei 11,97 kg/s.

II.1.2.3. DEM-Simulation der Partikelbewegung

Die Diskrete Elemente Methode (DEM) wurde ursprünglich von Cundall (1971) zur Analyse der Bewegung von Gebirgsformationen entwickelt und später von Cundall & Strack (1979) auf Böden und Lockergestein angewendet. DEM-Simulationen basieren auf Kräftebilanzen mit einfachen Modellen für die interpartikulären Kräfte. Die diskrete Modellierung der Partikelbewegung erfolgt auf der Grundlage der Newton'schen Gesetze (Itasca 2004).

parameter	symbol	unit	simulated dryer	test dryer	Ratio sim./exp.
total height	Н	m	0.865	2.455	
width	W _D	m	0.3	0.6	0.5
depth	D	m	0.0042 (d _P)	0.4	0.0105
number of air ducts	N_A	-	3	26	
length of flow path	l_{PF}	m	0.505	2.10	0.24
cross-sectional area (vertical)	$A_{D,v}$	m²	0.1195	0.9713	0.123
hold-up volume	V_{H}	m ³	5.02 · 10 ⁻⁴	0.39	
number of tracer parti- cles	N _{TP}	-	400	2400	
tracer layer height	h _{Tr}	m	0.02	0.02	
tracer layer depth	d_{Tr}	m	0.0042 (d _P)	0.01	

Tabelle 3: Dimensionen d	er Trockner und	Tracerpartikelschicht in	Simulation und Experiment
--------------------------	-----------------	--------------------------	---------------------------

Characteristic / parameter	symbol	unit	value	reference
mean particle diameter particle shape: spherical	d_{P}	m	0.0042	
particle density	$ ho_p$	kg·m⁻³	1300	Sokhansanj & Lang (1996)
gravitational acceleration	8	m·s⁻²	9.81	
Particle friction coefficient	μ_P		0.433	Mohsenin (1970)
wall friction coefficient	$\mu_{\scriptscriptstyle W}$		0.364	Kunibert (1983)
modulus of elasticity	E	N·m⁻²	3.31 · 10 ⁹	Mohsenin (1970)
normal stiffness	k _n	N·m⁻¹	1.83 · 10 ⁵	
shear stiffness	k _s	N·m ⁻¹	1.83 · 10 ⁵	
time step	Δt_{st}	s	4.508 · 10 ⁻⁶	
local damping coefficient	l _d		0.0	
viscous damping coefficient, nor- mal	V _n		0.9	
viscous damping coefficient, shear	V _s		0.9	
number of particles generated	N_P		39,000	

Tabelle 4: Partikeleigenschaften von Weizen und verwendete Modellparameter

Zweidimensionales DEM-Modell

Zur Berechnung der Schüttgutbewegung im Dächerschachttrockner wurde im Rahmen des vorliegenden Projektes ein zweidimensionales DEM-Simulationsmodell entwickelt (Iroba 2008). Als Simulationswerkzeug wurde dazu die kommerzielle Software PFC-2D (Itasca 2004) verwendet. Die DEM ist ein numerisches Berechnungsverfahren für die Partikelbewegung mit einem expliziten Zeitschritt-Integrationsverfahren, das geeignete Anfangs- und Randbedingungen erfordert, siehe Tabellen 3 und 4. Die Berechnung in PFC-2D erfolgt durch wiederholte Anwendung des Bewegungsgesetzes auf jede Partikel, dem Kraft-Weg-Gesetz auf jeden Kontakt und einem ständigen Update der Positionen. Im Verlauf der Simulation werden Kontakte, die zwischen zwei Partikeln oder zwischen Partikel und Wand existieren, automatisch generiert bzw. unterbrochen. Die vorherrschenden Gesetze sind daher das zweite Newton'sche Gesetz der Bewegung und das Kraft-Weg-Gesetz. Die angewendeten Bewegungsgleichungen ergeben ein System von Differentialgleichungen, die detailliert in (Iroba *et al.* 2010) beschrieben werden.



Bild 28: Schemata des ATB-Versuchstrockners (a) und des simulierten Trockners (b). 1, 2: Schichten in denen die Partikelgeschwindigkeit ermittelt wurde. 3, 4: Feststehende und bewegte Teile des Schlitzbodenaustrags

Der simulierte Trockner und der ATB-Versuchstrockner sind schematisch in den Bildern 28 a und b dargestellt, deren Abmessungen wurden in Tabelle 3 zusammengefasst. Die Partikeleigenschaften des verwendeten Versuchsgutes Weizen sind in Tabelle 4 aufgeführt. Der Partikeldurchmesser und die Schüttdichte wurden durch eigene Messungen bestimmt, die anderen Eigenschaften wurden Literaturangaben entnommen (Sokhansanj & Lang 1996; Mohsenin 1970; Kunibert 1983). Der Wert von $d_p = 4,2$ mm entspricht dem mittleren volumenäquivalenten Kugeldurchmesser, der aus einer Vielzahl von Einzelmessungen an Weizenkörnern ermittelt wurde. Dagegen ist die tatsächliche Partikelform der Weizenkörner ellipsoid, die jedoch schwierig zu modellieren ist. In der Simulation wird daher die Kugelform angenommen. Im vorliegenden Modell wird ein einfaches, lineares Kontaktmodell zugrunde gelegt. Der Korndurchmesser ist groß genug, so dass van-der Waals Kräfte vernachlässigt werden können. Folglich können die Normal- und die Schersteifigkeit k_n und k_s gleichgesetzt werden. Deren Wert berechnet sich zu

$$k_n = k_s = E \cdot A_P / d_P \tag{40}$$
wobei *E* das Elastizitätsmodul und A_p die Querschnittsfläche eines Korns charakterisieren. Folgende Annahmen liegen dem Modell zugrunde:

- 1. Die Geometrie des Trockners ist konstant über der Tiefe, folglich wird ein zweidimensionales Modell verwendet.
- 2. Die simulierte Trocknergeometrie umfasst die halbe Breite des Versuchstrockners.
- 3. Die Strömungsweglänge in der Simulation entspricht etwa ¼ der Weglänge im Experiment, siehe Tabelle 3 und Bild 28.
- 4. Das einzelne Getreidekorn wird als kugelförmige Partikel modelliert.
- 5. Der continuous flow wird betrachtet.
- 6. Das lineare Kontaktmodell wird angewendet.
- 7. Luftströmung wird vernachlässigt.

Um Rechenzeit zu sparen, wurde nur ein Teil der realen Trocknergeometrie modelliert. Der simulierte Trockner umfasst einen vollen Luftkanal in der Mitte sowie vier umliegende halbe Luftkanäle, siehe Bild 28 b. Das simulierte Gebiet wurde am unteren Ende des Trockners angeordnet, um das Austragssystem einzubeziehen. Die Dimensionen der Luftkanäle und des Austrags entsprechen denen des Versuchstrockners.

Mit Hilfe des DEM-Modells wurden im Einzelnen

- Partikelgeschwindigkeitsverteilungen,
- die Verweilzeitverteilung am Trockneraustrag sowie
- Partikelbahnen im Trockner

berechnet. Die Ergebnisse der Simulationen wurden unter anderen in (Iroba *et al.* 2009, 2010; Mellmann *et al.* 2010b) veröffentlicht. Zu den Details der Programmierung und der DEM-Simulation, siehe (Iroba *et al.* 2010).

Partikelgeschwindigkeitsverteilung

Bild 29 zeigt die Simulationsergebnisse zur Partikelgeschwindigkeitsverteilung am Beispiel der Schichten 1 und 2 in der Mitte bzw. an der linken Seitenwand des Trockners (Bild 28b). Wie die Verläufe der vertikalen Geschwindigkeitskomponente zeigen, hat die Reibung an den Wänden und Luftkanälen einen entscheidenden Einfluss auf das Bewegungsverhalten.



Bild 29: DEM-Simulation: Berechnete Partikelgeschwindigkeitsverteilungen: a) Schicht 1 (Mitte). b) Schicht 2 (links), siehe Bild 28b

Die Schüttgutströmung in der Mitte dieser Abschnitte ist jeweils am größten, während die Geschwindigkeitsverteilung zu den Seiten hin deutlich abfällt. Bild 29a zeigt die Geschwindigkeitsverteilung in der Schicht 1 in Trocknermitte (Bild 28b). Diese verdeutlicht die Wirkung des vollen zentralen Luftkanals, durch den die Strömungsverteilung in der Mitte oberhalb der Dachspitze etwas abgeflacht ist. Im Bild 29b ist die Geschwindigkeitsverteilung in Schicht 2 zwischen der linken Trocknerwand und dem vollen Luftkanal dargestellt. In dieser Schicht sind die Geschwindigkeitsunterschiede sehr ausgeprägt. Aus diesen Ergebnissen wird bereits ersichtlich, dass erhebliche Unterschiede in den Verweilzeiten einzelner Getreidekörner zu erwarten sind.

Verweilzeitverteilung und Partikelbahnen

Die Unterschiede der Partikelbewegung zwischen den wandnahen Regionen und der Trocknermitte wurden durch Simulation der Verweilzeitverteilung eingehender untersucht. Hierzu wurden im DEM-Modell - in Analogie zum Verweilzeitexperiment - Tracerpartikel simuliert und deren Bewegung durch den Trockner durch Aufzeichnung der Partikelbahnen verfolgt. Wie Bild 30a zeigt, wurde zu Beginn der Simulation eine horizontale Schicht gelb gefärbter kugelförmiger Partikel ($N_{TP} = 400$) am oberen Ende des Trockners aufgegeben. Eine Momentaufnahme der Partikelbewegung während der Berechnung veranschaulicht Bild 30b. Sie macht deutlich, wie stark die axiale (vertikale) Entmischung von statten geht und signalisiert bereits eine erhebliche Verzögerung der Partikelbewegung an den Seitenwänden. Mit Hilfe der Software wurden die Farbpartikel am Trockneraustrag gezählt. Wie im Experiment unter stationären Bedingungen, wurde auch in der Simulation der Trockner ständig von oben mit Material nachgefüllt.



Bild 30: DEM-Simulation der Verweilzeitverteilung: a) Tracerpartikelschicht zu Beginn (1 = Startposition). b) Entmischung im Verlauf der Simulation

Bild 31 zeigt das Ergebnis der simulierten Verweilzeitverteilung. Nach Ablauf der Durchbruchszeit des ersten Tracerteilchens bei etwa 75% der mittleren Verweilzeit ($t_B = 2,25$ s) steigt die Kurve steil an und durchläuft schnell ein Maximum. Dieser Bereich kennzeichnet den Haupt-Schüttgutstrom in der Mitte des Trockners. Danach flacht der Kurvenverlauf ab und es folgt ein langer, ausgeprägter "Schwanz" der Verweilzeitverteilung, der durch den an den Seitenwänden abgebremsten Gutstrom verursacht wird. Die mittlere Verweilzeit betrug $T_m = 2,97$ s.



Bild 31: DEM-Simulation: berechneter Verlauf der Verweilzeitverteilung



Bild 32: DEM-Simulation: Analyse der Partikeltrajektorien: 1 – Startposition der Tracerpartikel. a, b – Strömungshindernisse (halbe Luftkanäle)

Die Ergebnisse der Simulation wurden auch genutzt, um die Partikelbahnen im Trockner zu analysieren. Bild 32 zeigt die Ergebnisse dieser Analyse. In diesem Diagramm ist die vertikale Position der Partikel über der Zeit aufgetragen. Zur Veranschaulichung markanter Punkte und Strömungshindernisse im Trockner ist links neben dem Diagramm das Schema des simulierten Trockners dargestellt. Die Position 1 kennzeichnet den Ausgangspunkt der Farbpartikel. Die gelb markierte Partikelbahn kennzeichnet das erste Tracerteilchen, das den Trockner am Austrag verlassen hat. Die nächstfolgende, blaue Kurve beschreibt eine Partikelbahn aus dem Hauptstrom in der Mitte des Trockners, der nahezu ungehindert den Apparat passieren kann. Die übrigen Partikelbahnen gehören bereits zum "Schwanz" der Verweilzeitverteilung (Bild 31). Wie die Grafik sehr deutlich zeigt, durchlaufen diese Partikel zwei markante Strömungshindernisse: die halben Luftkanäle an den Seitenwänden (Positionen a und b, Bild 32). Die gestrichelten Linien weisen auf die Unterkante dieser Dächer. Das Volumen unterhalb dieser halben Luftkanäle stellt strömungstechnisch eine Totzone dar: hier verweilen die Partikel extrem lange, was auch experimentell nachgewiesen werden konnte. Die schwarz markierte Partikelbahn (rechts außen) kennzeichnet eine Farbpartikel, die den Trockner am Ende der Simulation noch nicht verlassen hatte.

Auf der Grundlage der Verweilzeit- und Partikelbahnanalysen in Verbindung mit den ermittelten Geschwindigkeitsverteilungen konnten erhebliche Ungleichverteilungen in der Schüttgutbewegung im Dächerschachttrockner nachgewiesen und Strömungshindernisse identifiziert werden.

II.1.2.4. Experimentelle Untersuchungen und Modellvalidierung

Die Versuche zur Partikelbewegung wurden an der halbtechnischen Versuchsanlage des ATB durchgeführt (Bild 21). Die Anlage besteht aus zwei parallel angeordneten, baugleichen Trocknerschächten mit einer rechnergestützten Messwerterfassung. Ein Trocknerschacht (rechts, wärmeisoliert) wird für Trocknungsversuche verwendet, der andere dient der Untersuchung der Schüttgutbewegung. Dieser Trocknerschacht ist zur Visualisierung der Partikelbewegung mit einer transparenten Plexiglaswand ausgerüstet.

Im Rahmen des Projektes wurde die Versuchsanlage um einen Elevator zur Beschickung des Trockners erweitert. Zur variablen Anordnung und Zuordnung der Luftkanäle für Zuluft bzw. Abluft wurde die komplette Luftführung modifiziert, die Form und Dimensionen der Kanäle wurde beibehalten. Die Anlage wurde strömungs- und wärmetechnisch verbessert, indem die Zuluft- und Abluftschächte strömungstechnisch günstig gestaltet und der Trockner mit einer verstärkten Wärmeisolierung beschichtet wurde. Der Trocknerschacht ist 2,455 m hoch, 0,6 m breit und 0,4 m tief (Bild 21b) und ist mit insgesamt 26 Zu- und Abluftkanälen bestückt, die horizontal angeordnet sind und über der Tiefe einen konstanten Querschnitt aufweisen. Ein Schüttguttrichter am Trocknereinlauf, der mit Hilfe des Elevators befüllt wird, dient als Vorratsspeicher für das Feuchtgetreide. Am unteren Ende des Trockners ist ein pneumatisch betriebener Schlitzbodenaustrag installiert, dessen prinzipieller Aufbau in Bild 22 dargestellt ist. Als Versuchsgut wurde Weizen verwendet (Tabelle 4).

Partikelgeschwindigkeitsverteilung

Zur Untersuchung des Bewegungsverhaltens wurden Verteilungen der vertikalen Partikelgeschwindigkeit gemessen. Zum Vergleich mit den Simulationsergebnissen wurden verschiedene Kornschichten im unteren Teil des Trocknerschachtes (ca. 1,8 m vom Trocknereinlauf entfernt) ausgewertet, siehe Bild 33. Diese Trocknersektion befindet sich oberhalb der Austragsvorrichtung.



Bild 33: Schichten im Versuchstrockner, in denen die Partikelgeschwindigkeit gemessen wurde: A – Schicht 2, links. B – Schicht 2, Mitte. Die Pfeile zeigen rote Farbpartikel im Verweilzeitexperiment





Bild 34: Gemessene Partikelgeschwindigkeitsverteilungen im interrupted bzw. continuous flow: a) Schicht 2A, links. b) Schicht 2B, Mitte

Die Partikelgeschwindigkeiten wurden in den Schichten 2A (links, 0,1 m breit) und 2B (Mitte, 0,2 m breit) bestimmt, die zwischen den vertikalen Wänden des Trockners bzw. der Luftkanäle liegen. Die Schichten mit einer Höhe von $\Delta y = 0.05$ m wurden in horizontaler Richtung in Abschnitte der Länge $\Delta x = 0.01$ m unterteilt. Die Geschwindigkeitsmessungen wurden sowohl im interrupted als auch im continuous flow Modus durchgeführt. Zur Messung der Geschwindigkeitsprofile wurde eine digitale Videokamera eingesetzt. Die Videos wurden mit der Bildbearbeitungs-Software Adobe Premiere (version 6.5) ausgewertet. Zu den Details der Auswertung der Messreihen sei auf Iroba *et al.* (2010) verwiesen.

Die Ergebnisse ausgewählter Messreihen werden im Bild 34 gezeigt. Die gemessenen Geschwindigkeitsverteilungen verdeutlichen, dass das Bewegungsverhalten in beiden Betriebsarten interrupted und continuous flow prinzipiell ähnlich ist. Die höchsten Geschwindigkeiten wurden zwischen den Luftkanälen in der Mitte des Trockners (Bild 34b) gemessen, die niedrigsten Werte erwartungsgemäß an der Trocknerwand. Um einen qualitativen Vergleich der Geschwindigkeitsprofile zu ermöglichen, wurden die Messwerte für beide Betriebsarten über separate Ordinaten aufgetragen. Aus der Geschwindigkeitsverteilung $v_P(x)$ lässt sich die mittlere Partikelgeschwindigkeit in der Schicht \overline{v}_P berechnen zu

$$\overline{v}_P = \frac{1}{W} \cdot \int_W v_P(x) \cdot dx \quad , \tag{41}$$

In Gleichung (41) kennzeichnet *W* die Breite der Schicht (W_{2A} : Schicht 2A, W_{2B} : Schicht 2B, Bild 33). Für die Schicht 2A betragen die mittleren Geschwindigkeiten für interrupted und continuous flow nach Gleichung (41) 0,0187 m·s⁻¹ bzw. 0.059 m·s⁻¹. Wie der Vergleich dieser beiden Werte zeigt, weichen diese etwa um den Faktor 3,2 voneinander ab. Dieser Wert stimmt sehr gut überein mit dem Verhältnis der aktuellen Zeiten ($t_D = 0,3$ s, $t_R = 0,7$ s) gemäß Gleichung (37). Aus dem Vergleich der Beziehungen (29) und (37) folgt

$$\frac{\overline{v}_{P,cont}}{\overline{v}_{P,int}} = \frac{t_{int}}{t_{cont}} = \frac{t_R + t_D}{t_D} = \frac{1.0s}{0.3s} = 3.33$$
(42)

Darüber hinaus wird die Partikelgeschwindigkeit durch die Reibungsverhältnisse an den Wänden beeinflusst, die unterschiedlich sind zwischen interrupted und continuous flow. Dies betrifft auch die transparente Plexiglaswand, an der die Geschwindigkeitsmessungen durchgeführt wurden. Beim continuous flow ist der Massenstrom um ein Vielfaches höher mit entsprechend geringeren Reibungseffekten als beim interupted flow. Umgekehrt ist der Einfluss der Reibung beim interrupted flow größer, siehe auch Kocsis *et al.* (2008b). Durch das periodische Öffnen und Schließen des Austrags erfolgt zudem insgesamt eine Abbremsung der Partikelbewegung gegenüber dem freien Ausfließen während des continuous flow Regimes.

Verweilzeitmessungen

Im Unterschied zur DEM-Simulation konnte der continuous flow im Verweilzeitexperiment nicht realisiert werden. Der freie Ausfluss des Getreides wäre aufgrund extrem großer Massenströme technisch nicht durchführbar, abgesehen von den erheblichen Einschränkungen bezüglich der Tracerpartikel-Dosierung und der Probenahme während des Versuchs zur Messung der Verweilzeitverteilung.

Aus dem Grunde wurden die Verweilzeitmessungen im interrupted flow Regime durchgeführt. Zur Auswertung der Messungen wurde nur die Austragszeit t_D als aktuelle Prozesszeit berücksichtigt unter der Annahme, dass während dieser Zeitintervalle der continuous flow jeweils voll ausgebildet war und der Einfluss der Öffnungs- und Schließzyklen des Austragssystems auf die Messergebnisse vernachlässigbar sind.

Als Tracertechnik wurden wiederum gefärbte Partikel verwendet. In diesem Falle wurde eine Weizenprobe mit roter Lebensmittelfarbe eingefärbt und getrocknet. Zu Beginn der Experimente wurde in der Nähe des Trocknereinlaufs jeweils eine horizontale Schicht aus Farbpartikeln aufgegeben. Die Bewegung und Entmischung dieser Schicht beim Durchlauf durch den Trockner wurden mit einer digitalen Videokamera aufgezeichnet. Die Einzelfotos im Bild 35 zeigen beispielhaft die Farbpartikelschicht zu Beginn bzw. im Verlauf eines Experiments.





Bild 35: Schichten rot gefärbter Tracerpartikel im Verweilzeitexperiment: a) zu Beginn des Versuchs.b) Bewegungsverhalten der entmischten Farbpartikelschicht

Bild 35a zeigt die Lage der Farbpartikelschicht vor Beginn des Versuchs. Diese wurde oberhalb der ersten Luftkanalreihe in einem Abstand von 0,355 m vom oberen Trocknerrand aufgegeben und anschließend vorsichtig mit Bettmaterial aufgefüllt. Um den Messaufwand zu begrenzen, wurde die Farbpartikelschicht (N_{TP} = 2.400, Breite 0,6 m, Höhe 0,02 m, Tiefe 0,01 m) mit begrenzter Partikelanzahl direkt an der Plexiglaswand positioniert.

Die Digital-Videokamera wurde vor dem Trockner zur Aufzeichnung der Partikelbewegung positioniert und mit dem Durchlauf der Farbpartikel entsprechend nachgeführt. Der Trockner wurde im interrupted flow Modus mit einer Austragszeit von 0,3 s und einer Ruhezeit von 0,7 s betrieben. Um den Versuchsablauf zu beschleunigen, wurden die ersten 75 Austräge in kurzer Folge in Schüben von 5-10 per Computersteuerung realisiert. Dadurch näherte sich

die Farbpartikelschicht dem Trockneraustrag. Anschließend wurde auf Handbetrieb umgestellt und mit der Probenahme begonnen. Einzelne Austräge wurden dann per Mausklick am Computer durchgeführt. Jeder Austrag wurde komplett als Probe entnommen und dessen Masse bestimmt. Die Anzahl der Tracerpartikel pro Austrag $N_{TP,i}$ wurde per Handauszählung ermittelt. Das Zeitintervall der Auswertung betrug damit $\Delta t = t_D = 0.3$ s. Während des Versuchs wurde der Trockner kontinuierlich mit Material befüllt und die Füllhöhe nahezu konstant gehalten, um stationäre Bedingungen aufrechtzuerhalten. Zu weiteren Einzelheiten der Verweilzeitmessungen siehe (Iroba 2008; Iroba *et al.* 2009).

Nach Gleichung (28) wurde die aktuelle Prozesszeit t für den continuous flow berechnet zu

$$t = N_D \cdot t_D \tag{43}$$

Die Ruhezeit wurde jeweils vernachlässigt ($t_R = 0$). Bild 35b zeigt das typische Bewegungsverhalten der Schüttung nach einer Prozesszeit 16,5 s ($N_D = 55$ Austräge). Die Durchbruchszeit des ersten Tracerteilchens in diesem Verweilzeitexperiment wurde nach Ablauf von 81 Austrägen zu $t_B = 24,3$ s ermittelt. Der Versuch wurde fortgesetzt bis etwa 73% der Tracerpartikel den Trockner verlassen hatten. Dies war der Fall nach 48,6 s Prozesslaufzeit. Die reale Versuchszeit für diese insgesamt 162 Austräge betrug etwa 18 Stunden.

Aus der Verweilzeitverteilung lässt sich die mittlere Verweilzeit berechnen zu

$$T_m = \frac{\sum_{i=1}^n N_{TP,i} \cdot t_i \cdot \Delta t}{\sum_{i=1}^n N_{TP,i} \cdot \Delta t}$$

(44)



Bild 36: Gemessene Verweilzeitverteilung im ATB-Versuchstrockner

Nach Gleichung (44) ergab sich die mittlere Verweilzeit für diesen Versuch zu $T_m = 32,6$ s. Dieser Wert beruht lediglich auf den 73% ausgetragenen Tracerpartikeln ($N_{TP} = 1.756$), deren zeitlicher Verlauf ausgewertet wurde. Die Ergebnisse sind in Bild 36 dargestellt. Wie die Grafik zeigt, wurde nach etwa 30 s der Prozesslaufzeit das Maximum des Tracerpartikelstroms erreicht. Damit beträgt die mittlere Geschwindigkeit dieses Hauptstroms etwa 0,07 m/s, bei einer mittleren Strömungsweglänge im Versuchstrockner von $l_{PF} = 2,1$ m (Tabelle 3). Die Validität dieser Messungen wird bestätigt durch die gute Übereinstimmung der gemessenen mittleren Verweilzeit mit der mittleren hydrodynamischen Verweilzeit gemäß Gleichung (32), die sich bei einem Hold-up von $M_G = 304.2$ kg und einem mittleren stationären Schüttgutmassenstrom von 9,33 kg/s sich berechnet zu $T_m = 32,6$ s.

Die im Trockner verbliebenen 27% der Farbpartikel (644) wurden im Nachgang des Versuchs am Folgetag ausgetragen. Dazu wurde die Trocknerfüllung (ca. 400 kg) satzweise entleert. Es zeigte sich, dass die Partikelbahnen der restlichen Tracerteilchen ausschließlich an den Seitenwänden des Trockners lagen. Sogar in der letzten ausgetragenen Charge wurden noch Farbpartikel entdeckt.

Diese extreme Verzögerung der Partikelbewegung an den Seitenwänden infolge der Wirkung der halben Luftkanäle, die ein erhebliches Strömungshindernis darstellen, konnte erneut bestätigt werden. Damit besteht für Getreidesträhnen, die sich mit sehr langer Verweilzeit entlang der Trocknerseitenwände bewegen, die potenzielle Gefahr der Übertrocknung und der thermischen Kornschädigung. Der unnötige Wasserentzug verursacht zudem einen erhöhten Energieverbrauch und erhöhte Trocknungsenergiekosten. Bei zukünftigen Trocknerauslegungen sollte dies berücksichtigt werden.

Modellvalidierung - Vergleich mit experimentellen Ergebnissen

Die Validierung des Schüttguttransportmodells soll am Beispiel der berechneten und gemessenen Verweilzeitverteilungen demonstriert werden. Ein direkter Vergleich der Ergebnisse kann erfolgen, indem deren Koordinaten dimensionslos gemacht werden (Iroba *et al.* 2010). Die dimensionslose Zeit der Partikelbewegung ergibt sich nach Division der aktuellen Prozesszeit durch die mittlere Verweilzeit T_m zu

$$\tau = \frac{t}{T_m} \tag{45}$$

Der dimensionslose Partikelstrom ausgetragener Tracerteilchen berechnet sich zu

$$\dot{N}_{Tr} = \frac{P_n}{\Delta \tau} = \frac{N_{TP,i} \cdot T_m}{N_{TP,i} \cdot \Delta t}$$
(46)

worin P_n die Wahrscheinlichkeit ausdrückt, mit der Tracerpartikel ausgetragen werden

$$P_n = \frac{N_{TP,i}}{N_{TP,t}} \tag{47}$$

Der Term $N_{TP,i}$ entspricht der Anzahl Tracerpartikel, die pro Zeiteinheit Δt den Trockner verlassen haben, und $N_{TP,i}$ der Gesamtanzahl ausgetragener Tracerteilchen. Das dimensionslose Zeitintervall ist definiert als

$$\Delta \tau = \frac{\Delta t}{T_m} \tag{48}$$

Bild 37 zeigt den Vergleich der beiden Verweilzeitverteilungen. Wie die Grafik verdeutlicht, besteht eine gute Übereinstimmung zwischen Berechnung und Messung. Beide Verteilungen zeigen in gleicher Weise das charakteristische Bewegungsverhalten der Schüttung.



Bild 37: Vergleich zwischen berechneter und gemessener Verweilzeitverteilung (dimensionslose Darstellung)

Die dimensionslose Durchbruchszeit $\tau_B = t_B / T_m = 0.75$ ist gleich groß und der Hauptstrom der Tracerpartikel erfolgt mit $\tau = 0.75$ -1.2 im selben Zeitintervall. Weiterhin zeigen beide Kurvenverläufe den gleichen, charakteristischen "Schwanz" der Verweilzeitverteilung. Der "Schwanz" der simulierten Verteilung ist länger, da 99% der Tracerpartikel am Ende der Simulation ausgetragen waren, während im Experiment nur 73% der Tracerpartikel den Trockner verlassen hatten. Wäre das Verweilzeitexperiment mit großem Zeitaufwand ausgedehnt worden, hätte der gemessene Kurvenverlauf im Bereich $\tau > 1,5$ ein ähnliches Aussehen. Das Verhältnis der mittleren Verweilzeiten Simulation / Berechnung

$$\frac{T_{m,sim}}{T_{m,exp}} = 0.12\tag{49}$$

stimmt exakt überein mit dem entsprechenden Verhältnis der Trocknervolumina bzw. -querschnittsflächen, siehe Tabelle 3.

Wie der Vergleich Modell - Experiment gezeigt hat, wird das Bewegungsverhalten der Partikel in Dächerschachttrocknern mit dem entwickelten DEM-Modell adäquat berechnet. Zur Bestimmung der relevanten physikalischen Partikeleigenschaften sind jedoch noch weitergehende Untersuchungen notwendig. Auch wenn noch keine Übereinstimmung in den absoluten Werten der Partikelgeschwindigkeit erzielt wurde, kann das Modell zur Vorausberechnung der Schüttgutbewegung und Auslegung von Designelementen des Trockners angewendet werden. Damit werden Kosten für zeitaufwändige Versuche nach der Methode "trial and error" im großtechnischen Maßstab eingespart.

II.1.2.5. Zusammenfassung

Zur Berechnung der Schüttgutbewegung in Dächerschachttrocknern wurde ein mathematisches Modell entwickelt, das für den überwiegend eingesetzten Schlitzbodenaustrag Gültigkeit besitzt. Ausgehend von der Funktionsweise dieses Austragsystems wurden Gleichungen für den praxisrelevanten, unterbrochenen Betrieb (interrupted flow) und den kontinuierlichen Betrieb (continuous flow) hergeleitet. Unter dem theoretisch möglichen, kontinuierlichen Betrieb des Schlitzbodenaustrags ist das kontinuierliche Ausfließen des Schüttgutes bei vollständig geöffneter Austragsvorrichtung zu verstehen. Dieser Fall entspricht dem Schüttgutausfluss aus einem Silo und ist von besonderem theoretischen Wert für die Modellierung der Partikelbewegung.

Zur Partikelbewegung wurden zwei- und dreidimensionale Simulationsmodelle auf der Basis der Diskrete Elemente Methode unter Nutzung der kommerziellen Software Particle Flow Code (PFC-2D, -3D) entwickelt. Zur experimentellen Untersuchung und Modellvalidierung sind Messungen zur Partikelgeschwindigkeits- und Verweilzeitverteilung am halbtechnischen ATB-Versuchstrockner durchgeführt worden. Der Vergleich zwischen berechneten und Messergebnissen zeigte, dass das Bewegungsverhalten der Getreideschüttung mittels DEM adäquat berechnet wird.

Erstmals wurde die Methode der Verweilzeitanalyse auf den Dächerschachttrockner angewendet. Mit deren Hilfe konnten

- Ungleichmäßigkeiten in der Partikelbewegung und
- die sie verursachenden Strömungshindernisse

identifiziert werden. Wie gezeigt werden konnte, wird die Schüttgutbewegung an den Seitenwänden durch die halben Luftkanäle erheblich verzögert. Dadurch wird die Verweilzeit und somit die Trocknungsdauer der Getreidepartien in wandnahen Bereichen extrem verlängert. Hier besteht die potenzielle Gefahr der Übertrocknung. Die entwickelten Ansätze bilden die Grundlage für ein Modell der gekoppelten Wärme- und Stoffübertragung unter Berücksichtigung der Schüttgutbewegung und der Luftströmung.

II.1.3. Verfahrensführung des Dächerschachttrockners

In Dächerschachttrocknern für Getreide wird die Gutfeuchtigkeit am Ende des Trocknungsprozesses, das heißt am Trockneraustrag, überwacht und geregelt. Ziele der Trocknerregelung können darüber hinaus die Maximierung des Trockengutdurchsatzes oder Minimierung des spezifischen Energiebedarfs bei gleichzeitiger Einhaltung der Ziel-Austrittsfeuchte sein. Zur Erklärung der einzelnen Parameter der Regelstrecke "Dächerschachttrockner' dient Bild 38, in dem das Blockschaltbild eines Standardregelkreises dargestellt ist. Dieser besteht aus der Regelstrecke, dem Regler und einer ggf. vorhandenen negativen Rückkopplung der Regelgröße.



Bild 38: Blockschaltbild eines Standardregelkreises

Die Regelgröße x wird mit der Führungsgröße (Sollwert) w verglichen. Die Regelabweichung e = w - x wird dem Regler zugeführt, der daraus entsprechend der gewünschten Dynamik des Regelkreises eine Stellgröße y bildet. Die Störgröße z wirkt meistens auf den Ausgang der Regelstrecke, kann aber auch auf verschiedene Teile der Regelstrecke Einfluss nehmen. Angewendet auf den Dächerschachttrockner bedeuten diese Parameter im Einzelnen

Regelgröße $x(t)$	Gutfeuchte am Austrag $F_A(t)$
Führungsgröße w(t)	Zielfeuchte $F_{Z}(t)$
Störgrößen z(t)	Schwankung der Eintrittsfeuchte $F_E(t)$
	Schwankung der Zuluftfeuchte $Y_{L,E}(t)$
Stellgrößen y(t)	Gutmassenstrom $\dot{M}_{TG}(t)$
	Trocknungstemperatur $\mathcal{G}_{L,E}(t)$
	Luftmassenstrom \dot{M}_L

Regelgröße des Trocknungsprozesses ist die Gutfeuchte am Austrag $F_A(t)$. Führungsgröße ist die Zielfeuchte $F_Z(t)$, die vom Trocknerbetreiber einstellbar ist. Wenn nach der Trocknung die Lagerfähigkeit des Getreides angestrebt wird, ist dies üblicherweise die Gleichge-

wichtsfeuchte zwischen Gut und Luft. Unter mitteleuropäischen Witterungsbedingungen (im Jahresdurchschnitt 15°C, 65% rel. Luftfeuchte) beträgt die Gleichgewichtsfeuchte ca. 14% w.b. und schwankt je nach Getreideart nur geringfügig um diesen Wert. Hauptstörgröße ist die Schwankung der Gutfeuchte am Trocknereintrag $F_E(t)$. Als Hauptstellgröße dient in der Praxis meist der Gutmassenstrom $\dot{M}_{TG}(t)$. Neben den genannten Störgrößen treten weitere auf wie zum Beispiel schwankende Gutqualität (Verunreinigungen, Zwiewuchs), Verstopfungen, Brückenbildung oder Verschleiß von Anlagenteilen. Wird im Getreidetrockner ausschließlich die Gutfeuchte geregelt, bezeichnet man den Prozess auch als "Feuchteregelstrecke".

II.1.3.1. Statisches und dynamisches Trocknerverhalten

Die Kenntnis des statischen und dynamischen Verhaltens der Regelstrecke ist von außerordentlicher Bedeutung für die Auslegung des Regelkreises (Töpfer & Rudert 1979; Unbehauen 2008). Nur aus der genauen Kenntnis der stationären Verhältnisse am Regelkreis ist es möglich, den Stellbereich einer Stelleinrichtung so auszulegen, dass allen möglichen Störungen begegnet werden kann. Die Dynamik der Regelstrecke ist ausschlaggebend für die Komplexität der Regelaufgabe.

Versuche zum statischen Trocknerverhalten

Unter dem statischen oder stationären Verhalten des Dächerschachttrockners ist die Abhängigkeit der Regelgröße, das heißt der Gutfeuchte am Austrag, von einer Stell- oder Störgröße zu verstehen. Entsprechend wird

$$F_A = f(\dot{M}_{TG}) \tag{50}$$

als Stellkennlinie des Gutmassenstroms $\dot{M}_{TG}(t)$ bei Konstanz aller anderen Stell- und Störgrößen ($y_i = konst.$, $z_i = konst.$) bezeichnet. Die Beziehung

$$F_A = f(F_E) \tag{51}$$

kennzeichnet zum Beispiel die Störkennlinie der Gutfeuchteschwankung am Eintrag $F_E(t)$.

Zur Ermittlung des statischen Verhaltens wurden Trocknungsversuche an der ATB-Technikumsanlage durchgeführt, bei denen jeweils nur eine Stell- bzw. Störgröße variiert wurde. Im Bild 39 sind beispielhaft die experimentell ermittelten, statischen Kennlinien der Austrittsfeuchte (Trockneraustrag) als Funktion des Trockengutmassenstroms $F_A = f(\dot{M}_{TG})$, der Zulufttemperatur $F_A = f(\mathcal{G}_L)$ und der Eintrittsfeuchte $F_A = f(F_E)$ dargestellt. Die Messungen wurden an erntefrischem Weizen mit einer Gutfeuchte von etwa 15,5% w.b. vorgenommen. Maßgebend war nicht das Erreichen einer bestimmten Zielfeuchte nach der Trocknung, sondern die Untersuchung der Wirkungen bestimmter Einflussgrößen auf die Austrittsfeuchte. Jeder Messwert stellt einen stationären Betriebspunkt dar, der über mehrere Stunden aufrecht erhalten wurde. Am Trocknereintrag und -austrag wurden fortlaufend Getreideproben entnommen, deren Feuchten nach dem Standard ISO 712 im Trockenschrank gemessen wurden. Zu den Einzelheiten des Versuchsaufbaus und der Messwerterfassung sei auf Mellmann *et al.* (2007) sowie Prosser (2009) verwiesen.



c)

Bild 39: Statische Kennlinien des Technikumstrockners (* Strömungsgeschwindigkeit im Lückenvolumen der Schüttung). a) $F_A = f(\dot{M}_{TG})$. b) $F_A = f(\mathcal{G}_L)$. c) $F_A = f(F_E)$

Die statischen Kennlinien wurden durch lineare Funktionen angenähert. Wie Bild 39a verdeutlicht, steigt die Austrittsfeuchte mit Zunahme des Trockengutmassenstroms an. Erwartungsgemäß sinkt die Austrittsfeuchte, wenn die Zulufttemperatur erhöht wird (Bild 39b). Die Ergebnisse im Bild 39c resultieren aus einem Versuch mit Aufgabe eines Feuchtesprungs am Guteintritt. Danach nimmt die Austrittsfeuchte unter sonst konstanten Bedingungen zu, wenn die Gutfeuchte am Trocknereintrag ansteigt.

Versuche zum dynamischen Trocknerverhalten

Das dynamische Verhalten von Regelstrecken lässt sich mit Hilfe der experimentellen Prozessanalyse ermitteln. Dazu werden am Eingang des Systems Testsignale in Form einer Sprungfunktion, Impulsfunktion oder einer harmonischen Schwingung aufgegeben. Die Ausgangssignale werden analysiert und Antwort- bzw. Übergangsfunktionen ermittelt (Töpfer & Rudert 1979; Unbehauen 2008). Das in der Regelungstechnik vorwiegend verwendete Testsignal ist die Dirichlet'sche Sprungfunktion, siehe Bild 40.



Bild 40: Dirichlet'sche Sprungfunktion

Je nachdem, ob am Eingang des Systems die Sprungfunktion einer Stell- oder Störgröße aufgegeben wurde, ist das interessierende, gemessene Ausgangssignal eine sog. Stellübergangsfunktion

$$x(t) = f[y(t)] \quad \text{mit} \quad z_i = konst.$$
(52)

oder eine Störübergangsfunktion

$$x(t) = f[z(t)] \quad \text{mit} \quad y_i = konst.$$
(53)

Wie bereits zum statischen Verhalten, wurden auch zur Ermittlung des dynamischen Verhaltens Trocknungsversuche an der ATB-Technikumsanlage durchgeführt (Mellmann *et al.* 2008). Dazu wurden am Trocknereingang Sprungfunktionen der Gutfeuchte $F_E(t)$ und der Zulufttemperatur $\mathcal{G}_L(t)$ aufgegeben. Die entsprechend gemessenen Übergangsfunktionen sind die Stellübergangsfunktion der Zulufttemperatur

$$F_A(t) = f[\mathcal{G}_L(t)] \tag{54}$$

sowie die Störübergangsfunktion der Gutfeuchte am Eintrag

$$F_A(t) = f[F_E(t)] \tag{55}$$

Für diese Messungen wurde jeweils ein Langzeit-Trocknungsversuch mit erntefrischem Wei-

zen realisiert. Die Ergebnisse werden in den Bildern 41 und 42 veranschaulicht, in denen die Gutfeuchten am Eintrag und Austrag über der Zeit aufgetragen sind.



Bild 41: Sprungantwortfunktion des Technikumstrockners auf einen Sprung der Zulufttemperatur am Eintrag (* Strömungsgeschwindigkeit im Lückenvolumen der Schüttung)



Bild 42: Sprungantwortfunktion des Technikumstrockners auf einen Gutfeuchtesprung am Eintrag (* Strömungsgeschwindigkeit im Lückenvolumen der Schüttung)

Bild 41 veranschaulicht die Stellübergangsfunktion des Technikumstrockners aufgrund eines Sprungs der Zulufttemperatur von 60°C auf 90°C, der gegen 13:10 Uhr am Lufteintritt des Trockners aufgegeben wurde. Wie die Antwortfunktion der gemessenen Austrittsfeuchte $F_A(t)$ verdeutlicht, reagierte das System auf diesen Sprung bereits nach etwa 15 min mit einer beginnenden Absenkung der Gutfeuchte. Der neue stationäre Zustand stellte sich erst nach 2,5-3 Stunden wieder ein, nachdem gegen 15:55 Uhr die Austrittsfeuchte einen Wert von etwa 14% w.b. erreichte.

Im Bild 42 ist die Störübergangsfunktion aufgrund eines Gutfeuchtesprungs am Trocknereintrag dargestellt. Nachdem die Trocknung der ersten Weizencharge (15,5% w.b.) den stationären Zustand erreicht hatte, wurde in diesem Versuch gegen 16:55 Uhr ein Feuchtesprung auf 17,6% w.b. realisiert. Die Sprungantwort $F_A(t)$ zeigt, dass der Dächerschachttrockner erst nach ca. 2 h auf diesen Feuchtesprung am Eintrag mit einem Anstieg der Austrittsfeuchte reagiert. Diese Zeitdifferenz (Totzeit) entspricht etwa einer mittleren Gutverweilzeit, die sich nach Gleichung (32) berechnet zu

$$T_m = \frac{M_H}{\dot{M}_{TG}}$$
(56)

Gleichung (56) gilt unter der Voraussetzung, dass der mittlere Gutmassenstrom im Trockner dem Trockengutmassenstrom am Austrag entspricht

$$\dot{M}_{S} = \dot{M}_{TG} \tag{57}$$

Bei einem Hold-up von etwa $M_{H} = 304$ kg und einem Trockengutmassenstrom von 150 kg/h unter stationären Bedingungen ergibt daraus sich eine mittlere Verweilzeit von $T_{m} = 2,03$ h.

Die deutlich größere Zeitdifferenz bis zum Erreichen des neuen stationären Zustands, die nach Aufgabe des Temperatursprungs gemessen wurde (ca. 2,5-3 h, Bild 41), ist auf den thermischen Ausgleich zurückzuführen. Im Unterschied zum Gutfeuchtesprung, bei dem keine Temperaturdifferenzen zu verzeichnen waren, fanden nach der schlagartigen Erhöhung der Zulufttemperatur Wärmeübertragungsvorgänge in der gesamten Trocknungsanlage statt. Die Totzeit bis zum Erreichen des neuen thermischen Gleichgewichts des Trockners ist demnach deutlich länger als die mittlere Gutverweilzeit, die bei diesem Experiment nur ca. 1,5 h betrug.

II.1.3.2 Sensortechnische Erfassung von Produktinhomogenitäten

Im vorliegenden Projekt wurden umfangreiche Trocknungsversuche sowohl im Technikumsals auch im Industriemaßstab durchgeführt. Ziel der Untersuchungen war es, neben der Modellvalidierung und der Ermittlung des statischen bzw. dynamischen Verhaltens, die Gleichmäßigkeit der Trocknung in Dächerschachttrocknern auf der Grundlage von Messungen zu Produktinhomogenitäten zu bewerten [(Kocsis *et al.* 2008b,c, 2009), (Mellmann *et al.* 2010a,b)]. Hierzu wurden im Einzelnen

- die Schüttgut-Massenstromverteilung (Partikelgeschwindigkeit, Partikelbahnen, Verweilzeit, Massenstrom) und
- die Gutfeuchte- und Guttemperaturverteilungen am Trockneraustrag

bestimmt. Zu den Ergebnissen der Partikelgeschwindigkeits- und Verweilzeitmessungen sei auf das Kapitel 1.2 verwiesen.

Die Gleichmäßigkeit der Trocknung in einem Dächerschachttrockner wird maßgebend durch die Geometrie, die Anordnung sowie die Zuordnung der Luftkanäle für Zuluft und Abluft bestimmt. In diesem Kapitel wird unter anderem der Einfluss der Luftkanalanordnung (horizontal, diagonal) untersucht, siehe Bild 43. Für die Darstellung der Ergebnisse und den Vergleich werden die Daten ausgewählter Trocknungsversuche im Technikums- und Industriemaßstab verwendet, die in Tabelle 5 aufgelistet sind.



Bild 43: Luftkanalanordnungen (+ Zuluft, - Abluft): a) horizontal (klassisch); b) diagonal, Schmidt-Seeger GmbH

Experiment No.	1	2	3
dryer	pilot	pilot	industrial
air duct arrange- ment	hori- zontal	diagonal	hori-zontal
type of grain	wheat	wheat	barley
inlet m.c. [% w.b.]	16.8	17.7	14.4
outlet m.c. [% w.b.]	11.8	14.4	14.0
grain mass flow rate (dried) [kg/h]	150	100	25,000
inlet air tempera- ture [°C]	70	60	40-45

Tabelle 5: Parameter ausgewählter Trocknungsversuche

Massenstromverteilung

Bereits mit Hilfe der Verweilzeitanalyse konnten Ungleichmäßigkeiten in der Partikelbewegung nachgewiesen und die sie verursachenden Strömungshindernisse identifiziert werden (Kapitel 1.2). Im Folgenden wird gezeigt, dass diese Ergebnisse durch Versuche zur Schüttgutmassenstromverteilung am Trockneraustrag bestätigt werden konnten. Im Bild 44 ist der Versuchsaufbau dargestellt, der auch für die Messungen zur Gutfeuchte- und Guttemperaturverteilung verwendet wurde. Speziell für diese Versuche wurde ein Satz von 40 Messboxen aus Aluminiumblech mit quadratischen Querschnitt (8 cm x 8 cm) gefertigt. Diese wurden durch einen Holzrahmen in der Anordnung 8 x 5 Boxen eingefasst, die etwa den Dimensionen des Trocknerquerschnitts am Austrag entsprach. Die Höhe der Boxen war so bemessen, dass die Getreidemassen für je einen Öffnungsvorgang des Austrags von den Boxen aufgenommen werden konnten. Mit Hilfe eines Hubwagens konnte diese Messanordnung direkt unter die Austragsöffnung positioniert werden.







Bild 44: Versuchsaufbau zur Massenstromverteilung am Trockneraustrag. a) Hubvorrichtung. b) Messboxen

Die Massenstromverteilungen wurden jeweils nach Erreichen des stationären Zustands aufgenommen. Dazu wurde der Auslauftrichter unterhalb der Austragsvorrichtung während der Standzeit zwischen zwei Austrägen demontiert und durch die Messanordnung ersetzt. Im Bild 45 sind beispielhaft die Ergebnisse von zwei Messreihen (Versuche 1 und 2, Tabelle 5) dargestellt. Aufgetragen sind die Getreidemassen in Gramm über der Querschnittsfläche am Austrag.



Bild 45: Massenstromverteilungen über dem Trocknerquerschnitt, gemessen am Austrag in Versuch 1 (a) und Versuch 2 (b)

Die gemessenen Verteilungen im Bild 45 zeigen, dass der Schüttgutstrom in der Mitte des Trockners nahezu gleichverteilt ist. Lediglich im Bild 45a sind leichte Unregelmäßigkeiten sichtbar, die aber auf lokale Verstopfungen durch Verunreinigungen (u.a. Beton-Bruchstücke) an den Austragsschlitzen zurückzuführen waren. Der starke Abfall des gemessenen Profils nach den Seitenwänden des Trockners wird aber in beiden Diagrammen deut-lich sichtbar. Ursache sind wiederum die halben Luftkanäle, die in jeder zweiten Luftkanalreihe an beiden Seitenwänden befestigt waren. Diese wirkten als Strömungshindernisse für den Getreidefluss und führten zu einer extremen Verlängerung der Trocknungsdauer und somit zu Übertrocknung.

Gutfeuchte- und Guttemperaturverteilungen am Austrag

Während die Inhomogenitäten der Massenstromverteilung allein strömungstechnische Ursachen haben, werden die Gutfeuchte- und Guttemperaturverteilungen durch den Trocknungsprozess insgesamt beeinflusst. Daher wurden diese Verteilungen im Technikumsmaßstab und an einem großtechnischen Dächerschachttrockner gemessen mit dem Ziel, die Gleichmäßigkeit der Trocknung zu bewerten und Ursachen für Produktinhomogenitäten zu analysieren (Kocsis *et al.* 2008c; Mellmann *et al.* 2010a,b). Bei den Versuchen im Technikumsmaßstab wurde der Einfluss der Luftkanalanordnung untersucht. Dazu wurde die klassische horizontale Luftkanalanordnung, die überwiegend in der Praxis zum Einsatz kommt, mit der diagonalen Anordnung von Firma Schmidt-Seeger verglichen, siehe Bild 43.

Versuche im Technikumsmaßstab

Für die Messungen am Technikumstrockner des ATB wurde der Versuchsaufbau nach Bild 44 genutzt. Die Aufnahme der Gutfeuchte- und Guttemperaturverteilungen erfolgte, wie oben beschrieben, gleichfalls erst nach Erreichen des stationären Betriebszustandes. Zur Untersuchung der Gutfeuchteverteilung wurden die jeweils 40 Gutproben aus den Messboxen nach der Trockenschrankmethode gemäß ISO 712 analysiert. Da die Gutfeuchtebestimmungen sehr zeitaufwendig sind, wurden die Gutproben bis zur Analyse in einer Kühlzelle zwischengelagert. Dagegen wurden die Guttemperaturverteilungen unmittelbar während der Versuche gemessen. Hierzu wurde eine Thermokamera verwendet. Die Messboxen wurden mit Hilfe des Hubwagens (Bild 44) dem Trockner entnommen und auf dem Boden abgestellt. Anschließend wurden, nur etwa eine halbe Minute nach dem Austrag, die Thermokamera oberhalb der Messboxen positioniert und die Temperaturverteilung aufgenommen.

In den Bildern 46 und 47 werden beispielhaft die Ergebnisse der Gutfeuchte- und Guttemperaturverteilungen am Trockneraustrag bei horizontaler (Versuch 1) und diagonaler Luftkanalanordnung (Versuch 2) gezeigt, vgl. Tabelle 5. Wie die Grafiken veranschaulichen, existieren erhebliche Ungleichverteilungen über dem Trocknerquerschnitt, obwohl die Versuche unter konstanten Bedingungen am Trocknereintritt gefahren wurden. Das heißt, alle Einflussparameter (Stell- und Störgrößen) einschließlich der Gutfeuchte am Eintrag wurden konstant gehalten.

Die größten Gutfeuchte- und Guttemperaturschwankungen wurden bei horizontaler Luftkanalanordnung im Versuch 1 festgestellt (Bild 46). In diesem Versuch lag die Gutfeuchte am Eintrag konstant bei 16,8% w.b., während die Werte am Austrag über einen sehr weiten Feuchtebereich zwischen 9,5 und 14,0% w.b. schwankten, bei einer mittleren Gutfeuchte am Austrag von 11,8% w.b. (Tabelle 5). Die Schwankungsbreite der Austrittsfeuchte von bis zu 4,5% w.b. lag damit in der gleichen Größenordnung wie die absolute Feuchtedifferenz zwischen Eintrag und Austrag von 5% w.b. (16,8 - 11,8% w.b.). Ein Vergleich mit der Guttemperaturverteilung im Bild 46 zeigt, dass sich die Gutfeuchten und -temperaturen umgekehrt proportional verhalten. Das heißt, Gutfeuchteminima und Guttemperaturmaxima liegen an den gleichen Messorten und umgekehrt. Ursache dieser nahezu sinusförmigen Verteilungen über der Trocknerbreite ist die horizontale Luftkanalanordnung, bei der sich waagerecht liegende Zuluft- bzw. Abluftkanalreihen in vertikaler Richtung abwechseln, siehe Bild 43a. Darüber hinaus sind die Luftkanäle in Dächerschachttrocknern üblicherweise versetzt angeordnet, um - ähnlich wie in Wärmeüberträgern - eine gleichmäßige Durchströmung und gute Wärmeübergangsbedingungen zu gewährleisten. Diese horizontale, versetzte Anordnung hat zur Folge, dass auch vertikale, nebeneinander liegende Dachreihen gleichen Typs vorliegen. Das heißt, einzelne Getreidesträhnen passieren auf ihrem Weg durch den Trockner nur jeweils heiße Zuluft- bzw. kalte Abluftkanäle und werden dadurch über- bzw. untertrocknet. Wie der Vergleich von Bild 43a mit Bild 46 bestätigt, lagen die Gutfeuchteminima jeweils unter einer vertikalen Zuluftdachreihe des Versuchstrockners; das ausgeprägte Feuchtemaximum in der Trocknermitte wurde durch die zentrale vertikale Abluftdachreihe verursacht.



Bild 46: Gutfeuchte- und Guttemperaturverteilungen am Trockneraustrag: Versuch 1, horizontale Luftkanalanordnung



Bild 47: Gutfeuchte- und Guttemperaturverteilungen am Trockneraustrag: Versuch 2, diagonale Luftkanalanordnung

Bei der diagonalen Luftkanalanordnung (Versuch 2) wurden geringere Feuchte- und Temperaturschwankungen festgestellt, siehe Bild 47. Diese hat gegenüber der horizontalen Anordnung den Vorteil, dass in vertikaler Richtung abwechselnd Zuluft- und Abluftkanäle übereinander liegen (Bild 43b). Amplitude und Periodendauer einer "Gutfeuchteschwingung" über der Trocknerbreite werden dadurch etwa halbiert. Dies führt zu einer Vergleichmäßigung der Trocknung. Die Messwerte der Gutfeuchte über dem Austragsquerschnitt schwankten jedoch auch bei diesem Versuch in einem weiten Bereich zwischen 12,5 und 16,0% w.b. Die Schwankungsbreite der Einzelmesswerte lag auch hier in der gleichen Größenordnung wie die Feuchtedifferenz zwischen Eintrag und Austrag von etwa 3,3% w.b. Insbesondere zu den Seitenwänden fällt das Feuchteprofil stark ab. Hier kam es zur Übertrocknung.

Trotz gleichmäßigerer Feuchteverteilung hat die diagonale Anordnung den Nachteil einer schlechteren Durchströmung der Schüttung im Vergleich zur horizontalen Anordnung. Durch die diagonale und versetzte Anordnung der Luftkanäle bilden sich Totzonen in der Getreideschüttung, die nicht von der Trocknungsluft durchströmt werden. Dadurch wird die Trocknungsleistung verringert.

Versuche an einem industriellen Dächerschachttrockner

Der Einfluss der Luftkanalanordnung auf die Gleichmäßigkeit der Trocknung wurde auch an einem industriellen Dächerschachttrockner untersucht. Ziel der Untersuchungen war, die Beobachtungen und Ergebnisse der Technikumsversuche auch im großtechnischen Maßstab zu bestätigen. Begleitend zur großtechnischen Erprobung der neuartigen Mikrowellensensoren (Kapitel 1.4) wurde dazu in der Ernteperiode 2009 ein Trocknungsversuch an Gerste an einem Dächerschachttrockner der Firma PETKUS vom Typ ,Durchlauftrockner Typ WS' durchgeführt, siehe Bild 13 und Bild 49. Dieser Trockner (2,3 m x 1,9 m im Querschnitt) war mit einer horizontalen Dachanordnung gemäß Bild 43a ausgestattet. Die Daten zu diesem Versuch sind Tabelle 5 zu entnehmen (Versuch 3). Die erntefrische Gerste war bereits relativ trocken und hatte nur eine geringe Anfangsfeuchte von etwa 14,4% w.b. Der Trockner wurde daher mit einer niedrigen Zulufttemperatur von 40-45°C betrieben. Dazu war es ausreichend, die BHKW-Abwärme einer benachbarten Biogasanlage zu nutzen, die über einen separaten Wärmeüberträger dem Frischluftstrom zugeführt wurde. Die mittlere Gutfeuchte am Austrag lag bei 14,0% w.b.



Bild 48: Gutfeuchte am Trockneraustrag als Funktion der Trocknerbreite: a) Versuche 1 und 2 im Technikumsmaßstab. b) Versuch 3 am Industrietrockner der Firma PETKUS

Die Ergebnisse der Gutfeuchteverteilungen der Versuche 1-3 wurden zum Vergleich im Bild 48 zusammengefasst, in dem die Gutfeuchten am Austrag über der Trocknerbreite dargestellt sind. Jeder Messwert entspricht einem arithmetischen Mittelwert über der Trocknertiefe, der aus fünf (Versuche 1, 2) bzw. sechs (Versuch 3) Einzelmesswerten gebildet wurde. Die gestrichelten Linien kennzeichnen die jeweiligen Mittelwerte der Austrittsfeuchten, siehe Tabelle 5.

Die Ergebnisse des großtechnischen Versuches 3 sind im Bild 48b dargestellt. Wie die stark oszillierende Feuchteverteilung über der Trocknerbreite verdeutlicht, werden die Ergebnisse aus den Technikumsversuchen (Bild 48a) voll bestätigt. Minima und Maxima der Gutfeuchteverteilung wurden, wie erwartet, jeweils unter vertikalen Zuluft- bzw. Abluftkanalreihen ermittelt. Der Industrietrockner verfügt über 7 volle und zwei halbe Luftkanäle auf der Zuluftseite und 8 volle Luftkanäle auf der Abluftseite über der Trocknerbreite. Die Gutproben wurden während des stationären Betriebes per Hand aus den vollen Luftkanälen der jeweils untersten Kanalreihe (kurz oberhalb des Austrags) entnommen und analysiert. Die Schwankungsbreite der Einzelmesswerte lag auch hier in der gleichen Größenordnung wie die Feuchtedifferenz zwischen Eintrag und Austrag von etwa 0,4% w.b.

Zusammenfassung

Die Untersuchungen zu Produktinhomogenitäten in Dächerschachttrocknern hinsichlich Schüttgutmassenstrom-, Gutfeuchte- und Guttemperaturverteilungen haben gezeigt, dass der Trocknungsprozess sehr ungleichmäßig abläuft. Wichtigstes Kriterium zur Bewertung der Gleichmäßigkeit der Trocknung ist die Gutfeuchteverteilung. Wie die Untersuchungen sowohl im Technikums- als auch im großtechnischen Maßstab ergaben, liegt die Schwankungsbreite der Gutfeuchte am Austrag in der gleichen Größenordnung wie die absolute Feuchtedifferenz zwischen Guteintrag und -austrag (vor und nach der Trocknung). Die Hauptursache dieser erheblichen Feuchteschwankungen liegt in der Art der Luftkanalanordnung und damit der Luftführung. Die größten Ungleichmäßigkeiten wurden bei der horizontalen Dachanordnung festgestellt. Die erheblichen Gutfeuchteschwankungen und die damit einher gehende, ungleichmäßige Trocknung sind erstmals im Rahmen dieses Projektes detailliert gemessen und festgestellt worden. Aus der Literatur sind vergleichbare Untersuchungsergebnisse bisher nicht bekannt. Da das Getreide nach Ablauf der Trocknung in einen Auslauftrichter unterhalb der Austragsvorrichtung fällt, werden die sehr unterschiedlich feuchten Getreidepartien mehr oder weniger miteinander vermischt, so dass bei etwaigen Probenahmen im Auslauftrichter oder danach keine Feuchtedifferenzen mehr festgestellt werden können. Diese Produktinhomogenitäten entzogen sich bisher möglicherweise aus diesem Grund der Erkenntnis.

Aus der festgestellten Ungleichmäßigkeit der Trocknung lässt sich ein erhebliches Energieeinsparpotenzial ableiten. Die Aufgabe zukünftiger Forschungs- und Entwicklungsarbeiten wird es sein, durch Verbesserung des Trocknerdesigns die Energieeffizienz zu steigern. Eine Vergleichmäßigung der Trocknung bewirkt gleichzeitig eine Erhöhung der Produktqualität.

II.1.3.3. Modellbasierte Verfahrensführung

Im Vorprojekt PSN1 wurde das Konzept einer modellbasierten Regelung für Getreide-Schachttrockner entwickelt, siehe Mellmann *et al.* (2005). Wie sich zeigte, war dieses auf leistungsfähige, kontinuierlich arbeitende Dächerschachttrockner nicht übertragbar. Grund dafür waren bestimmte Annahmen und Voraussetzungen (unter anderem plug-flow Modell für Partikelbewegung) des zugrunde liegenden Modells. Ziel dieses Projektes war deshalb die Erweiterung des mathematischen Modells für den Trocknungsprozess um ein Teilmodell für die Schüttgutbewegung.

Prozessabläufe in der Schüttguttechnik und verfahrenstechnische Prozesse mit Partikelbewegung werden zunehmend auf der Basis der Diskreten Elemente Methode modelliert. Hierzu wurde im Kapitel 1.2 ein mathematisches Modell entwickelt und experimentell validiert. Die Kopplung dieses Schüttguttransportmodells mit dem Prozessmodell konnte im Rahmen dieses Projektes jedoch nicht realisiert werden. Hierfür liegen verschiedene Gründe vor. Einerseits steht die Vernetzung von DEM-Modellen zur diskreten Simulation der Partikelbewegung mit Kontinuumsmodellen für Strömungs-, Wärme- und Stoffübertragungsvorgänge noch im Anfangsstadium. Hieran wird gegenwärtig weltweit geforscht. Andererseits fand innerhalb der Projektlaufzeit ein Bearbeiterwechsel statt. Dadurch konnten die Arbeiten zur Prozessmodellierung nicht im geplanten Umfang durchgeführt werden. Aus diesem Grunde konnten die gewonnenen Erkenntnisse zum statischen und dynamischen Trocknerverhalten bisher nicht genutzt und die modellbasierte Verfahrensführung nicht wie geplant umgesetzt werden. Mit der erfolgreichen Entwicklung eines Online-Gutfeuchtesensors auf Basis des Mikrowellen-Resonatorverfahrens wurde jedoch eine Grundvoraussetzung für dieses Konzept geschaffen.

Die im Rahmen des vorliegenden Vorhabens gewonnenen, herausragenden Erkenntnisse zu Produktinhomogenitäten und zur Ungleichmäßigkeit der Trocknung haben jedoch gezeigt, dass das größte Potenzial zur Energieeffizienzsteigerung und zur Erhöhung der Produktqualität in der verfahrenstechnischen Optimierung des Apparates "Dächerschachttrockner" liegt. Die festgestellten Produktinhomogenitäten sind nicht auf regelungstechnische sondern apparativ-verfahrenstechnische Mängel dieses Trocknertyps zurückzuführen. Auf Basis eines verbesserten, weitgehend optimierten Trocknerdesigns sollte auch eine verbesserte Verfahrensführung angestrebt werden.

II.1.4. Praxiserprobung an einem industriellen Dächerschachttrockner

Die Praxiserprobung der entwickelten Mikrowellensensoren (Kapitel 1.1) erfolgte in Kooperation mit der Firma TEWS Elektronik und der Firma PETKUS in der Ernteperiode 2009 an einem Getreidetrockner bei einem Kunden der Fa. PETKUS in Mecklenburg-Vorpommern. Ursprünglich waren bereits ab 2008 großtechnische Sensortests geplant. Die Inbetriebnahme dieses Trockners verzögerte sich jedoch, wodurch diese Tests auf das Jahr 2009 verschoben werden mussten.

Die Praxiserprobung der Online-Gutfeuchtemessung an Gerste fand am 15. und 16. Juli 2009 im laufenden Trocknungsbetrieb statt. Parallel wurden an dem Dächerschachttrockner des Typs ,Durchlauftrockner Typ WS' (Bild 13) Messungen zur Gutfeuchteverteilung vorgenommen, siehe Kapitel 1.3.2. Die Mikrowellenresonatoren wurden am Trocknereintrag und austrag installiert. Bei der Wahl der Einbauorte waren Aspekte wie die Zugänglichkeit der Messstellen an der Trocknungsanlage und der ständige Kontakt der Messoberflächen mit dem Getreidefluss zu berücksichtigen. Für die erforderliche, periodische Leermessung an freier Luft war weiterhin zu gewährleisten, dass die Planarsensoren von Zeit zu Zeit schüttgutfrei sein mussten. Als geeignete Einbauorte erwiesen sich der Einfüllschacht oberhalb der Trocknungszone und der Auslauftrichter unterhalb der Austragsvorrichtung, siehe Bild 49.



Bild 49: Großtechnische Erprobung der Mikrowellensensoren: Messorte am Industrietrockner



Bild 50: Referenzgutfeuchten am Eintrag und Austrag des Industrietrockners: Messwerte für Gerste (vgl. Versuch 3, Tabelle 5)

Am ersten Versuchstag (15.07.2009) wurde die Messtechnik aufgebaut, und es wurden Versuchsvorbereitungen, beispielsweise Absprachen mit dem Trocknerbetreiber, getroffen. Die Erprobungsversuche fanden am 16.07.2009 statt. Die Online-Messung der Gutfeuchten erfolgte über einen Zeitraum von vier Stunden.

Am Trocknereintrag wurde mit dem neuen Mikrowellensensor P66/50/4 gemessen, am Trockneraustrag mit dem Standardsensor P145/180, da hier nur niedrige Materialfeuchten zu erwarten waren. Für die Referenzfeuchtemessungen (Trockenschrank, ISO 712) wurden am Eintrag und Austrag im Abstand von 10 Minuten Getreideproben entnommen. Am Trocknereintrag schwankten die gemessenen Referenzfeuchten zwischen ca. 13,7% w.b. und 15,5% w.b., am Trockneraustrag lagen sie im Bereich 13,4 – 14,6% w.b., siehe Bild 50.



Bild 51: Messungen am Trocknereintrag mit dem Sensor P66/50/4

Bild 51 zeigt Messungen am Trocknereintrag mit dem neuen Sensor P66/50/4. Der Sensor war am Einlauftrichter des Trockners montiert, der periodisch mit Getreide gefüllt und entleert wird. Nach jeder Leerung konnte somit eine automatische Leermessung erfolgen. Bei der Mikrowellenmessung erfolgten Mittelwertbildungen über die Signale jeweils über eine Minute, alle 10 Minuten wurde eine Referenz-Feuchteprobe entnommen. Bei der Auswertung dieser Messreihe wurde festgestellt, dass der Mikrowellensensor jedoch ungünstig positioniert war und bei der Befüllung des Einlauftrichters nur zeitweise mit Getreide bedeckt wurde. Das gemessene Mikrowellen-Feuchteprofil in Bild 51 ist deshalb sehr lückenhaft. Der Einbauort am Trocknereintrag ist also noch zu optimieren. Es können hier Messpositionen gefunden werden, an denen der Sensor regelmäßig bedeckt wird.



Bild 52: Messungen am Trockneraustrag mit dem Sensor P145/180

Bild 52 zeigt Messungen am Trockneraustrag mit dem Sensor P145/180. Der Sensor war am Auslauftrichter des Trockners montiert, der periodisch mit Getreide gefüllt und entleert wurde. Nach jeder Leerung konnte somit eine automatische Leermessung erfolgen Bei der Mikrowellenmessung erfolgten Mittelwertbildungen über die Signale jeweils einer Minute, alle 10 Minuten wurde eine Referenz-Feuchteprobe entnommen. Die in Bild 52 gezeigte Messperiode beträgt ca. 2 h, die Standardabweichung zwischen Mikrowellen- und Referenzmessung beträgt SD = 0.2% w.b.

Eine weitere Sensorerprobung an der Hauptgetreideart Weizen war für den August 2009 vorgesehen. Wegen der sehr trockenen Witterung in Mecklenburg-Vorpommern in diesem Zeitraum wurde der Weizen in der Region ausschließlich trocken geerntet. Dadurch waren keine weiteren Messreihen möglich.

Dennoch wurde die Sensorentwicklung erfolgreich abgeschlossen. Mit der Entwicklung neuer Streufeldsensoren nach dem Mikrowellen-Resonatorverfahren konnte der messbare Feuchtebereich für Weizen, Roggen, Gerste, Triticale, Hafer und Mais erweitert werden. Diese Sensoren sind dadurch auch zur dichteunabhängigen Gutfeuchtemessung am Guteintrag von Getreidetrocknern einsetzbar. Die vorliegende Temperaturkompensation lässt auch die Messung innerhalb des Trockners zu. Die neuartigen Sensoren ermöglichen künftig eine sichere Trocknerregelung auf der Grundlage der direkten Online-Gutfeuchtemessung vor und nach der Trocknung.

Literaturverzeichnis

- Abu-Hamdeh, N.H., Othman, A.M. (2004): An Experimental Study and Mathematical Simulation of Wheat Drying. Drying Technology 22, 491-506.
- Amoodeh, T., Khoshtaghaza, M.H., Minaei, S. (2006): Acoustic on-line grain moisture meter. Computers and Electronics in Agriculture 52 (1-2), 71-78.
- Bakker-Arkema, F.W., Liu, Q. (1997): Stochastic Modelling of Grain Drying: Part 3: Analysis of Crossflow Drying. J. Agric. Eng. Res. 66, 281-286.
- Berbert, P., Molina, M., Viana, A., Carlesso, V., Oliveirea, M. (2006): Suitability of the function [(e'-1)/e"] for on-line estimation of common bean moisture content at radiofrequencies. In: Proceedings of the 15th International Drying Symposium (IDS 2006), Budapest, Hungary, 20-23 August, 7 p.
- Bertrand, F., Leclaire, L., Levecque, G. (2005): DEM-based models for the mixing of granular materials. Chemical Engineering Science 60, 2517-2531.
- Böckelmann, M. (2003): Qualitätssicherung durch dokumentierte Trocknung. Mühle + Mischfutter 140 (23), 689-691.
- Böckelmann, M., Weimar, R.-J., Lücke, W., von Hörsten, D. (2007): Der Einsatz von Mikrowellen zur Maistrocknung Grundlagen und Laborversuche. Agrartechnische Forschung 13, 27-36.
- Böckelmann, M., Lücke, W., Weimar, R.-J., von Hörsten, D. (2007): Der Einsatz von Mikrowellen zur Maistrocknung – Anwendungen im Technikumsmaßstab. Agrartechnische Forschung, 13, 101-109.
- Brooker, D.B., Bakker-Arkema, F.W., Hall, C.W. (1992): Drying and Storage of Grains and Oilseeds. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Bruce, D.M. (1984): Simulation of Multiple-Bed Concurrent-, Counter-, and Mixed-Flow Grain Driers. J. Agric. Eng. Res. 30, 361-372.
- Bruce, D.M., McFarlane, N.J.B. (1992): Control of Mixed-flow Grain Driers: Testing of a Feedbackplus-Feedforward Algorithm. J. Agric. Engng. Res. 52, 11-23.
- Cao, C.W., Yang, D.Y., Liu, Q. (2007): Research on Modeling and Simulation of Mixed-Flow Grain Dryer. Drying Technology 25, 681-687.
- Cenkowski, S., Miketinac, M.J., Kelm, A.W. (1990): Airflow patterns in a mixed-flow dryer. Can. Agric. Eng. 32, 85-90.
- Courtois, F., Abud Archila, M., Bonazzi, C., Meot, J.M., Trystram, G. (2001): Modeling and control of a mixed-flow rice dryer with emphasis on breakage quality. Journal of Food Engineering 49, 303-309.
- Cundall, P.A. (1971): A Computer Model for Simulating Progressive Large Scale Movements in Blocky Rock Systems. In: Proceedings of the Symposium of the International Society of Rock Mechanics, Nancy, France, Vol. 1, Paper No. II-8.
- Cundall, P.A., Strack, O.D. (1979): A Discrete Numerical Model for Granular Assemblies. Geotechnique 29, 47-65.
- Danckwerts, P.V. (1953): Continuous flow systems. Chemical Engineering Science 2(1), 1-13.
- Dantec (2005): Computer control system for continuous and semi-continuous grain dryers. Dantec Electronics Ltd., Waterloo, Canada.
- Farkas I., Remenyi, P., Biro, A. (2000): Modelling aspects of grain drying with a neutal network. Computers and Electronics in Agriculture 29, 99-113.
- Freudenberger, A. (1989): Möglichkeiten der Feuchtemessung bei verfahrenstechnischen Trocknungsprozessen. Chem.-Ing.-Technik 61, 953-957.
- Gasteiger, A. (1992): Online-Feuchtemessung. Mühle + Mischfutter 129, 749.
- Ghosh, P.K., Jayas, D.S., Gruwel, M.L.H., White, N.D.G. (2007): A magnetic resonance imaging study of wheat drying kinetics. Biosystems Engineering 97, 189-199.

- Giner, S.A., Bruce, D.M., Mortimore, S. (1998a): Two-Dimensional Simulation Model of Steady-state Mixed-Flow Grain Drying. Part 1: The Model. J. Agric. Eng. Res. 71 37-50.
- Giner, S.A., Bruce, D.M., Mortimore, S. (1998b): Two-Dimensional Simulation Model of Steady-state Mixed-Flow Grain Drying. Part 2: Experimental Validation. J. Agric. Eng. Res. 71 51-66.
- Gnielinski, V., Mersmann, A., Thurner, F. (1993):: Verdampfung, Kristallisation, Trocknung. Verlag Vieweg, Wiesbaden.
- Gramatte, W., Niethammer, F. (2000): Inline Feuchteerfassungssystem TRIME®-GW. DLG Prüfbericht Nr. 4866, DLG Groß-Umstadt.
- Gramatte, W., Häuser, S. (2004): RIELA Durchlauftrockner GDT 200. DLG-Prüfbericht Nr. 5360, DLG Groß-Umstadt.
- Gröger, T. (2005): Partikelsimulationen zur Optimierung verfahrenstechnischer Anlagen. Mühle + Mischfutter 142 (1), 12-13.
- Hauschild, T. (2005): Density and Moisture Measurements Using Microwave Resonators. In: Kupfer, K. (Ed.) Electromagnetic Aquametry, Electromagnetic Wave Interaction with Water and Moist Substances. Springer Verlag, Heidelberg.
- Heindl, A., Heindl, Th. (1998): Kontinuierliche Feuchtemessung zur Regelung von Bandtrocknern. Z. Arzn. Gew. Pfl. 3, 146-154.
- Herrmann, R., Sikora, J. (1997): Mikrowellen-Feuchtemeßtechnik mit Resonatoren und ihre Anwendungen. In: K. Kupfer u. a. Materialfeuchtemessung. Band 513. Expert Verlag, Renningen.
- IMKO Micromodultechnik GmbH Ettlingen (2010): Internet (www.imko.de).
- Iroba, K.L. (2008): Simulation of Solid Mass Flow in a Mixed-Flow Grain Dryer using Discrete Element Method (DEM). Otto-von-Guericke Universität Magdeburg.
- Iroba, K.L., Weigler, F., Mellmann, J., Metzger, T., Tsotsas, E. (2009): Particle Velocity Profiles and Residence Time Distribution in Mixed-Flow Grain Dryers. In: Proceedings of the 6th International Conference for Conveying and Handling of Particulate Solids (ChoPS), 3 – 7 August, Brisbane, Australia, 79-84.
- Iroba, K.L., Weigler, F., Mellmann, J., Metzger, T., Tsotsas, E. (2010): Residence Time Distribution in Mixed-Flow Grain Dryers. Drying Technology 28, in press.
- ISO 712 (1998): Cereals and cereal products Determination of moisture content Routine reference method. Third edition. © ISO.
- ISO 6540 (1980): Maize Determination of moisture content (on milled grains and on whole grains). First edition. © ISO.
- Itasca Consulting Group, Inc. (2004): PFC 2D. Version 3.1: Theory and Background Manual. Minneapolis, USA.
- Jayas, D.S., White, N.D.G., Muir, W.E. (1995): Stored-Grain Ecosystems. Marcel Dekker Inc., New York.
- Klemmer, K.-D. (1989): Verfahrenstechnische Untersuchungen zur Modellierung des Stoff- und Wärmeüberganges in einem Dächerschachttrockner für Getreide. Dissertation, TU Dresden.
- Klinger, J. (1977): Einige thermodynamische und strömungstechnische Untersuchungen zur Modellierung der Vorgänge in Dächerschachttrocknern für Getreidekörner. Dissertation, TU Dresden.
- Kocsis, L., Teodorov, T., Mellmann, J. (2007): Effect of the Walls on Grain Mass Flow in Mixed-Flow Dryers. In: Proceedings of the International Conference on Intensifying Poroceedings of Biomaterial Processings (PROBIOM), Sinaia, Romania, 20-23 August, 11 p.
- Kocsis, L., Schlemm, U., Richter, H., Mellmann, J., Farkas, I. (2008a): On-line Microwave Measurement of the Moisture Content of Wheat. In: Proceedings of the 17th World Congress of International Federation of Automatic Control (IFAC 2008), July 6-11, 2008, Seoul, Korea, 631-635.
- Kocsis, L., Teodorov, T., Mellmann, J., Gottschalk, K., Mészáros, C., Farkas, I. (2008b): Analysis of Grain Mass Flow Experiments in a Mixed-Flow Dryer. In: Proceedings of the 17th World Congress of International Federation of Automatic Control (IFAC 2008), July 6-11, Seoul, Korea, 1608-1612.

- Kocsis, L., Farkas, I., Mellmann, J., Gottschalk, K., Mészáros, C. (2008c): Moisture content fluctuation caused by mass flow in the mixed-flow dryer. In: Proceedings of the 16th International Drying Symposium (IDS 2008), Hyderabad, India, November 9-12, 697-701.
- Kocsis, L., Farkas, I., Mészáros, C., Teodorov, T., Mellmann, J. (2009): Moisture Content Distribution Comparison in Pilot and Industrial Mixed-Flow Dryers. In: Proceedings of the 4th Nordic Drying Conference, 17-19 June, Reykjavik, Iceland.
- Kocsis, L., Vashishtha, V. (2007): Different types of measurements of the wheat moisture content. Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. (ATB).
- Krischer, O., Kast, W. (1978): Trocknungstechnik. Band 1: Die wissenschaftlichen Grundlagen der Trocknungstechnik. 3. Auflage, Springer-Verlag Berlin.
- Kunibert, M. (1983): Transport, Umschlag, Lagerung in der Landwirtschaft. VEB Verlag Technik, Berlin.
- Kupfer, K. (1997): Materialfeuchtemessung. Expert Verlag, Renningen-Malmsheim.
- Kwapinska, M., Saage, G., Tsostas, E. (2006): Mixing of particles in rotary drums: A comparison of discrete element simulations with experimental results and penetration models for thermal processes. Powder Technology 161, 69-78.
- Latein, T., Blume, P., Köhler, K., Ruf, R. (2003): Erfahrungen mit einer Trocknersteuerung im Feldeinsatz. Mühle + Mischfutter 140 (16/17), 481-484.
- Laxhuber, T. (2001): Europas größte Mais-Trocknungsanlage. Mühle + Mischfutter 138 (23), 772.
- Levenspiel, O., Smith, W.K. (1957): Notes on the diffusion-type model for the longitudinal mixing of fluids in flow. Chemical Engineering Science 6, 227-233.
- Liu, Q., Montross, M.D., Bakker-Arkema, F.W. (1997): Stochastic Modelling of Grain Drying: Part 1: Experimental Investigation. J. Agric. Eng. Res. 66 267-273.
- Liu, Q., Bakker-Arkema, F.W. (1997): Stochastic Modelling of Grain Drying: Part 2: Model Development. J. Agric. Eng. Res. 66, 275-280.
- Liu, Q., Bakker-Arkema, F.W. (2001): A model-predictive controller for grain drying. Journal of Food Engineering 49, 321-326.
- Liu, X., Chen, X., Wu, W., Zhang, Y. (2006): Process control based on principal component analysis for maize drying. Food Control 17, 894-899.
- Maltry, W. (1966): Einige Untersuchungen zur Aufklärung des Verhaltens von Getreide im Dächer-Schachttrockner. Archiv für Landtechnik 5 (3), 223-264.
- Maltry, W., Pötke, E., Schneider, B. (1975): Landwirtschaftliche Trocknungstechnik. 2. Auflage, VEB Verlag Technik, Berlin.
- Maltry, W. (1975): Wirtschaftliches Trocknen. Verlag Theodor Steinkopff, Dresden.
- McFarlane, N.J.B., Bruce, D.M. (1991): Control of Mixed-flow Grain-driers: Development of a Feedback-plus-Feedforward Algorithm. J. Agric. Engng. Res. 49, 243-258.
- Mellmann, J. (1989): Zonales Feststoffmassestrommodell für flammenbeheizte Drehrohr-reaktoren. Dissertation, Technische Universität Magdeburg.
- Mellmann, J., Richter, I.-G., Maltry, W. (2005): Optimierte Steuerung von Getreide-Schachttrocknern. Bornimer Agrartechnische Berichte, Heft 52, Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. (ATB).
- Mellmann, J., Richter, I.-G., Maltry, W. (2007): Experiments on Hot-Air Drying of Wheat in a Semi-Technical Mixed-Flow Dryer. Drying Technology 25, 1287-1295.
- Mellmann, J., Kocsis, L., Farkas, I. (2008): Analysis of the dynamic response of a mixed-flow grain dryer on the basis of reversing experiments. In: Proceedings of the International Symposium Reliable Flow of Particulate Solids IV (RELPOWFLO IV), 10-12 June, Tromsø, Arctic Norway.
- Mellmann, J., Iroba, K.L., Metzger, T., Tsotsas, E. (2010a): Gutfeuchte- und Verweilzeit-verteilungen in Dächerschachttrocknern für Getreide. Jahrestreffen des ProcessNet-Fachausschusses Trocknungstechnik, 1.-2. März, Göttingen.

- Mellmann, J., Iroba, K.L., Metzger, T., Tsotsas, E. (2010b): DEM modelling of solids transport in mixed-flow dryers. In: Proceedings of the 6th World Congress on Particle Technology (WCPT6 2010), 26 – 29 April, Nürnberg, Germany.
- Mellmann, J., Teodorov, T. (2010): Solids Transport in Mixed-Flow Dryers. Powder Technology 112, submitted.
- Miller, P.C.H., Whitfield, R.D. (1984): The Predicted Performance of a Mixed-Flow Grain Dryer. J. Agric. Eng. Res. 30, 373-380.
- Mohsenin, N.N. (1970): Physical Properties of Plants and Animal Materials, Volume 1. Gordon and Breach Science Publishers Inc., New-York.
- Mühlbauer, W. (2009): Handbuch der Getreidetrocknung. AgriMedia Verlag, Clenze.
- Münzing, K. (2008a) Die Wasseraktivität als Leitgröße im Umgang mit Getreide. Mühle + Mischfutter 145 (3), 65-69.
- Münzing, K. (2008b): Mühlenfähiges Getreide nur von lagerfesten Partien. Mühle + Mischfutter 145 (19), 648-650.
- Neethirajan, S., Karunakaran, C., Jayas, D.S., White, N.D.G. (2006):: X-ray Computed Tomography Image Analysis to explain the Airflow Resistance Differences in Grain Bulks. Biosystems Engineering 94 (4), 545-555.
- Nellist, M.E. (1974): The drying of ryegrass seeds in deep layers. Ph.D. Thesis, Univ. of Newcastleupon-Tyne (unpubl.).
- Nellist, M.E., Bruce, D.M. (1995): Heated-Air Grain Drying. In: Jayas, D.S., White, N.D.G., Muir, W.E. (Eds.) Stored-Grain Ecosystems. Marcel Dekker Inc., New York, 609-659.
- Olesen, H.T. (1982): Korntørring (Getreidetrocknung). Innovation, Develpoment, Engineering ApS, Thisted.
- Pabis, S., Jayas, D.S., Cenkowski, S. (1998): Grain Drying. Theory and Practice. John Wiley & Sons Inc., New York.
- Poppe, G. (2007): Feuchtemessung im Prozess, Bauart Döscher & Döscher. Mühle + Mischfutter 144 (21), 752.
- Poppe, G. (2010): Trocknungstechnik, Bauart Goldsaat. Mühle + Mischfutter 147 (7), 212-213.
- Prosser, P. (2009): Experimentelle Untersuchungen zur Getreidetrocknung an einem Dächerschachttrockner. FHTW Berlin.
- Renström, R. (2008): Mean residence time and residence time distribution when sawdust is dried in continuous dryers. Drying Technology 26, 1457-1463.
- Riela Getreide- & Mischfuttertechnik GmbH (2010): Internet (www.riela.de).
- Riou, H., Herrmann, R. (1998): Schnellmeßmethode für Mischfutterfeuchte mit Mikrowellentechnik. Sonderdruck aus: Kraftfutter 11, 2-4.
- Sadd, M., Adhikari, G., Cardoso, F. (2000): DEM simulation of wave propagation in granular materials. Powder Technology 109, 222-233.
- Schlemm, U., Richter, H., Kocsis, L., Mellmann, J. (2008): Feuchtemessung in Weizen mit der Mikrowellen-Resonanzmethode. Mühle + Mischfutter 145 (23), 786-789.
- Sitompul J.P., Stadi, I., Sumardiono, S. (2003): Modelling and Simulation of Momentum, Heat, and Mass Transfer in a Deep-Bed Grain Dryer. Drying Technology 21, 217-229.
- Sokhansanj, S., Lang, W. (1996): Prediction of Kernel and Bulk Volume of Wheat and Canola during Adsorption and Desorption. Journal of Agricultural Engineering Research 63, 129-136.
- Spitzlei, M. (2002): Prozeßautomatisierung und Optimierung durch Online-Feuchtemessung. Mühle + Mischfutter 139 (20), 579-580.
- Stakic, M., Tsotsas, E. (2005): Model-Based Analysis of Convective Grain Drying Processes. Drying Technology 23, 1895-1908.
- Stärk, E., Grunewald, H., Müller, C., Rössler, L. (2009): Innovative Nah-Infrarot-Technik für die Qualitätssicherung und Prozesskontrolle. Mühle + Mischfutter 146 (9), 280-282.

Stela Laxhuber GmbH Massing (2010): Internet (www.stela.de).

- Stewart, R., Bridgwater, J., Zhou, Y., Yu, A. (2001): Simulated and measured flow of granules in bladed mixer - a detailed comparison. Chemical Engineering Science 56, 5457-5471.
- Teodorov, T. (2006): Optimierung und Erprobung der Schüttgut-Austragsvorrichtung an einem Getreide-Schachttrockner. Diplomarbeit, Technische Universität Sofia.
- Tews (1991): Process and device for determining the moisture content of the material of a test object using microwaves. EP 468023 B1, TEWS Elektronik, Hamburg.
- Tews (1998): Microwave stray field sensor for humidity / density measurements. EP 908718 B1 TEWS Elektronik, Hamburg.
- Tews, M., Schlemm, U., Richter, H. (2009): Sensor zur Online-Getreidefeuchtemessung. Abschlussbericht zum Teilvorhaben TV 4 des BMBF-Rahmenprojekts ProSenso.net2 (PSN2), Tews Elektronik Hamburg.
- TEWS Elektronik GmbH Hamburg (2010): Internet (www.tews-elektronik.com).
- Theisen, K.-H. (1995): Mit Mikrowellen Feuchte im Prozeß messen. Verfahrenstechnik 29, 66-68.
- Töpfer, H., Rudert, S. (1979): Einführung in die Automatisierungstechnik. 4. Auflage. VEB Verlag Technik, Berlin.
- Tsotsas, E., Mujumdar, A.S. (2007): Modern Drying Technology. Vol. 1: Computational Tools at Different Scales. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA, Weinheim.
- Tsostas, E., Kwapinska, M., Saage, G. (2007): Modeling of contact dryers. Drying Technology 25, 1377-1391.
- Unbehauen, H. (2008): Regelungstechnik I. 15. Auflage, Vieweg + Teubner Verlag, Wiesbaden.
- Vogelei, S., Baumann, G. (2007): Robust und leistungsstark Mikrowellengestütztes Feuchtebestimmungssystem für die Trocknung von Schüttgütern. dei 12, 16-17.
- Whitfield, R.D. (1988a): Control of a Mixed-flow Drier. Part 1: Design of the Control Algorithm. J. Agric. Engng. Res. 41, 275-287.
- Whitfield, R.D. (1988b): Control of a Mixed-flow Drier. Part 2: Test of the Control Algorithm. J. Agric. Engng. Res. 41, 289-299.
- Xu, Q., Pang, S. (2008); Mathematical modeling of rotary drying of woody biomass. Drying Technology 26, 1344-1350.

Verzeichnis der Symbole und Indizes

a_i , b_i	Kalibrationskoeffizienten	
Α	Verschiebung der Resonanzfrequenz	Hz
Α	Querschnittsfläche	m²
В	Vergrößerung der Halbwertsbreite der Resonanz	Hz
d	Schichtdicke	m
d_P	mittlerer Partikeldurchmesser	m
D	Tiefe (depth) des Trockners	m
e	Regelabweichung	
Ε	Elastizitätsmodul	N/m ²
f	Resonanzfrequenz	Hz
F	Gutfeuchte	% w.b.
8	Erdbeschleunigung	m/s²
h	Schichthöhe	m
Н	Höhe des Trockners	m

k	Partikelformfaktor in Gleichung (39)	-
k	Steifigkeit	N/m
l_d	Lokaler Dämpfungskoeffizient	-
l_{PF}	Länge der Partikelbahn	m
L	Länge des Austragsschlitzes	m
<i>m</i>	Massenstromdichte	kg/(m²⋅s)
M	Masse	kg
\dot{M}	Massenstrom	kg/s
Ν	Anzahl	
Ň	dimensionsloser Partikelstrom	
Р	Wahrscheinlichkeit	
t	Zeit	S
$t_1 \ldots t_4$	Zeitpunkte im Betrieb des Austragsschiebers (Bild 25)	S
Δt	Zeitintervall	S
Т	Guttemperatur	°C
T_m	mittlere (hydrodynamische) Verweilzeit	S
V	viskoser Dämpfungskoeffizient	-
V _P	Partikelgeschwindigkeit	m/s
\overline{v}_P	mittlere Partikelgeschwindigkeit	m/s
V	Volumen	m ³
W	Halbwertsbreite der Resonanz	Hz
W	Breite der Austragsschlitze	m
W	Führungsgröße	
W	Breite des Trockners, -segmentes	m
x	kartesische Koordinate	m
x	Regelgröße	
у	kartesische Koordinate; Weglänge	m
У	Stellgröße	
Y	absolute Luftfeuchte	kgH ₂ O/kgL ^{tr}
Z	Störgröße	

Griechische Symbole

δ	Dicke eines Weizenkorns	m
Φ	Mikrowellenfeuchtewert	-
μ	Reibungskoeffizient	-
Θ	Neigungswinkel des Auslauftrichters	o
$ ho_b$	Schüttdichte	kg/m³
τ	dimensionslose Zeit	

Indizes

Α	Austrag; Luftkanal (air duct)
В	(Tracer-) Durchbruch, break-through
cont	kontinuierlich, continuous
С	Schließen, closing
D	Trockner (dryer); Austrag (discharge)
DS	Austragsschlitz (discharge slot)
exp	Experiment
Ε	Eintrag
h	horizontal
Η	hold-up (Masse)
int	interrupted
L	Luft
т	mittlere
т	(mit Material) gefüllter Resonator
n	Normal; nominal, Nenn-
Р	particle
PF	Partikelbewegung (particle flow)
0	Öffnen, opening
R	Ruhe, resting
sim	Simulation
S	Schüttgut; Stand, standing; Scher
t	total, gesamt
tr	trocken
Tr	Tracer
TG	Trockengut
ТР	Tracerpartikel
v	vertikal
W	Warten, waiting; Wand
Ζ	Ziel
0	leerer Resonator; vor der Befeuchtung
1	nach der Befeuchtung
1 4	Zeitpunkte im Betrieb des Austragsschiebers (Bild 25)

Abkürzungen

DEM	Diskrete Elemente Methode
m.c.	moisture content
SD	standard deviation (Standardabweichung)
w.b.	wet basis (bezogen auf feuchtes Gut)
II.2. Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere die Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

Die erfolgreiche Sensorentwicklung und die damit erzielten Messergebnisse legen es nahe, das neue Messverfahren in der Praxis einzusetzen. Die neuen Sensoren müssen noch vom Prototypen- in ein Produktstadium überführt werden. Dies muss konstruktiv unter Berücksichtigung der an Getreidetrocknern vorliegenden Prozessbedingungen erfolgen. Anschließend können die Sensorsysteme in der Getreidetrocknung eingesetzt werden. Aufgrund des reduzierten Feuchtebereiches ist eine Messung der Feuchte am Trockneraustrag auch mit Standardsensoren der Fa. TEWS möglich.

Mit Hilfe der neuartigen Online-Mikrowellensensoren kann das Konzept der Trocknerregelung auf Basis der direkten Feuchtemessung vor und nach der Trocknung in die Praxis umgesetzt werden. Diese ermöglichen erstmals eine zuverlässige, dichteunabhängige Gutfeuchtemessung des erntefrischen Getreides am Trocknereintrag. Die Messbereichserweiterung konnte für die Getreidearten Weizen, Gerste, Roggen, Hafer, Triticale und Mais erreicht werden. Es wird eingeschätzt, dass die neuen Sensoren darüber hinaus auch kettenübergreifend im gesamten Ernte- und Nacherntebereich von Getreide einsetzbar sind.

Die gewonnenen Erkenntnisse über die vorherrschenden Produktinhomogenitäten und die Ungleichmäßigkeit der Trocknung in Dächerschachttrocknern, die durch Designdefizite verursacht werden, sind von großem Nutzen für die Weiterentwicklung dieses Trocknungsverfahrens. Die verfahrenstechnische Optimierung des Trocknerapparates mit dem Ziel, die Prozess- und Produktqualität sowie die Energieeffizienz zu steigern, ist Gegenstand weiterer Forschungen.

II.3. Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

Durch Informationsrecherchen sind Arbeiten einer Forschergruppe an der China Agricultural University (CAU) bekannt geworden, die aber auf die Ziele und Ergebnisse des laufenden Forschungsprojektes keinen Einfluss haben.

Cao, C.W., Yang, D.Y., Liu, Q. (2007): Research on Modeling and Simulation of Mixed-Flow Grain Dryer. Drying Technology 25 (4-6), 681-687.

II.4. Erfolgte und geplante Veröffentlichungen

- Mellmann, J., Richter, I.-G., Maltry, W. (2006): Experiments on hot-air drying of wheat in a semitechnical mixed-flow dryer. In: Proceedings of the 15th International Drying Symposium (IDS 2006), 20-23 August, Budapest, Hungary, 1373-1380.
- Mellmann, J., Richter, I.-G., Maltry, W., Fürll, C. (2006): Modelling of grain drying and experiments at a semi-technical mixed-flow dryer. In: Proceedings of the XVI. CIGR World Congress "Agricultural Engineering for a Better World",3 7 September, Bonn, Germany, 649-650.
- Mellmann, J., Richter, I.-G., Maltry, W. (2007): Experiments on Hot-Air Drying of Wheat in a Semi-Technical Mixed-Flow Dryer. Drying Technology 25, 1287-1295.
- Mellmann, J., Kocsis, L., Gottschalk, K., Mészáros, C., Farkas, I. (2007): Heat and Mass Transfer in the Mixed-Flow Grain Dryer. In: Proceedings of the International Conference on Intensifying Poroceedings of Biomaterial Processings (PROBIOM), Sinaia, Romania, 20-23 August, 12 p.

- Kocsis, L., Teodorov, T., Mellmann, J. (2007): Effect of the Walls on Grain Mass Flow in Mixed-Flow Dryers. In: Proceedings of the International Conference on Intensifying Poroceedings of Biomaterial Processings (PROBIOM), Sinaia, Romania, 20-23 August, 11 p.
- Mellmann, J., Kocsis, L., Farkas, I. (2008): Analysis of the dynamic response of a mixed-flow grain dryer on the basis of reversing experiments. In: Proceedings of the International Symposium Reliable Flow of Particulate Solids IV (RELPOWFLO IV), 10-12 June, Tromsø, Arctic Norway.
- Kocsis, L., Schlemm, U., Richter, H., Mellmann, J. (2008a): Microwave Measurements of the Moisture Content of Wheat with a Prototype Sensor. International Conference on Agricultural Engineering (EurAgEng 2008), 23-25 June, Hersonissos – Crete, Greece.
- Kocsis, L., Mellmann, J., Gottschalk, K., Farkas, I. (2008b): Mass Flow Measurements of Grain in a Pilot Mixed-Flow Dryer. International Conference on Agricultural Engineering (EurAgEng 2008), 23-25 June 2008, Hersonissos – Crete, Greece.
- Kocsis, L., Schlemm, U., Richter, H., Mellmann, J., Farkas, I. (2008c): On-line Microwave Measurement of the Moisture Content of Wheat. In: Proceedings of the 17th World Congress of International Federation of Automatic Control (IFAC 2008), July 6-11, Seoul, Korea, 631-635.
- Kocsis, L., Teodorov, T., Mellmann, J., Gottschalk, K., Mészáros, C., Farkas, I. (2008d): Analysis of Grain Mass Flow Experiments in a Mixed-Flow Dryer. In: Proceedings of the 17th World Congress of International Federation of Automatic Control (IFAC 2008), July 6-11, Seoul, Korea, 1608-1612.
- Mellmann, J., Kocsis, L., Gottschalk, K., Mészáros, C., Farkas, I. (2008): Development of the Heat and Mass Transfer Model for Mixed-Flow Grain Dryer. In: Proceedings of the 17th World Congress of International Federation of Automatic Control (IFAC 2008), July 6-11, Seoul, Korea, 9591-9595.
- Kocsis, L., Farkas, I., Mellmann, J., Gottschalk, K., Mészáros, C. (2008e): Moisture content fluctuation caused by mass flow in the mixed-flow dryer. In: Proceedings of the 16th International Drying Symposium (IDS 2008), Hyderabad, India, November 9-12, 697-701.
- Schlemm, U., Richter, H., Kocsis, L., Mellmann, J. (2008): Feuchtemessung in Weizen mit der Mikrowellen-Resonanzmethode. Mühle + Mischfutter 145 (23), 786-789.
- Iroba, K.L., Weigler, F., Mellmann, J., Metzger, T., Tsotsas, E. (2009): Modeling of Residence Time Distribution in a Mixed-Flow Grain Dryer using Discrete Element Method (DEM). ProcessNet Jahrestreffen der Fachausschüsse "Agglomerations- & Schüttguttechnik" und "Trocknungstechnik", 11.-13. März, Bad Dürkheim.
- Kocsis, L., Farkas, I., Mészáros, C., Teodorov, T., Mellmann, J. (2009): Moisture Content Distribution Comparison in Pilot and Industrial Mixed-Flow Dryers. In: Proceedings of the 4th Nordic Drying Conference, 17-19 June, Reykjavik, Iceland.
- Iroba, K.L., Weigler, F., Mellmann, J., Metzger, T., Tsotsas, E. (2009): Particle Velocity Profiles and Residence Time Distribution in Mixed-Flow Grain Dryers. In: Proceedings of the 6th International Conference for Conveying and Handling of Particulate Solids (ChoPS), 3 – 7 August, Brisbane, Australia, 79-84.
- Mellmann, J., Iroba, K.L., Metzger, T., Tsotsas, E. (2010a): Gutfeuchte- und Verweilzeit-verteilungen in Dächerschachttrocknern für Getreide. Jahrestreffen des ProcessNet-Fachausschusses Trocknungstechnik, 1.-2. März, Göttingen.
- Mellmann, J., Iroba, K.L., Metzger, T., Tsotsas, E. (2010b): DEM modelling of solids transport in mixed-flow dryers. In: Proceedings of the 6th World Congress on Particle Technology (WCPT6 2010), 26 – 29 April, Nürnberg, Germany.
- Iroba, K.L., Weigler, F., Mellmann, J., Metzger, T., Tsotsas, E. (2010): Residence Time Distribution in Mixed-Flow Grain Dryers. Drying Technology 28, in press.

Studentische Arbeiten

- Teodorov, T. (2006): Optimierung und Erprobung der Schüttgut-Austragsvorrichtung an einem Getreide-Schachttrockner. Diplomarbeit, Technische Universität Sofia.
- Stiehl, F. (2006): Die Warmlufttrocknung von Weizen in Dünnschichtversuchen und im Dächerschachttrockner. Technische Fachhochschule Berlin.

- Kocsis, L., Vashishtha, V. (2007): Different types of measurements of the wheat moisture content. Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. (ATB).
- Iroba, K. L. (2008): Simulation of Solid Mass Flow in a Mixed-Flow Grain Dryer using Discrete Element Method (DEM). Otto-von-Guericke Universität Magdeburg.
- Prosser, P. (2009): Experimentelle Untersuchungen zur Getreidetrocknung an einem Dächerschachttrockner. FHTW Berlin.
- Lenz, S. (2010): Vergleichende Versuche am Dächerschachttrockner mit unterschiedlicher Luftführung. Praktikumsbericht, FH Brandenburg.

Eingereichte Publikationen

- Mellmann, J., Iroba, K.L., Möller, B., Metzger, T., Tsotsas, E. (2010c): Moisture content and residence time distributions in mixed-flow grain dryers. 17th International Drying Symposium (IDS 2010), 3-6 October, Magdeburg, Germany.
- Mellmann, J., Iroba, K.L., Weigler, F., Metzger, T., Tsotsas, E. (2010d): Particle Velocity Profiles and Residence Time Distribution in Mixed-Flow Grain Dryers. Granular Matter 12, submitted.
- Mellmann, J., Teodorov, T. (2010): Solids Transport in Mixed-Flow Dryers. Powder Technology 112, submitted.

Weitere Veröffentlichungen sind geplant.



Teilprojekt 1.3 "Spezifische Verfahrensführung bei der Getreidetrocknung zur Inhibition von Mykotoxinbildnern durch sensortechnische Erfassung von Produktinhomogenitäten"

Berichterstatter: Manfred Tews, Dr. Udo Schlemm, Hendrik Richter

Teil I Kurzdarstellung

I.1. Aufgabenstellung

Ziel des Vorhabens war die Entwicklung eines zur Prozesskontrolle einsetzbaren Online-Messverfahrens zur Bestimmung der Getreidefeuchte im Nacherntebereich und die technische Umsetzung sowie Erprobung einer darauf basierenden spezifischen Verfahrensführung für Getreidetrockner. Schwerpunkt der Arbeiten der Fa. TEWS Elektronik war hierbei die Entwicklung und Erprobung eines innovativen Mikrowellen-Sensors, mit dem die Gutfeuchte und deren Verteilung in großen Getreide-Massenströmen wie zum Beispiel bei der Trocknung und anderen Nachernteprozessen im gesamten relevanten Feuchtebereich gemessen werden kann. Als Basis einer Trocknerregelung können damit die Entstehung von Mykotoxinbildnern durch Untertrocknung vermieden sowie thermische Schädigungen und Verkaufsverluste durch Übertrocknung minimiert werden.

I.2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Die oben beschriebene Aufgabenstellung der Regelung von Getreidetrocknern durch eine Feuchtemessung war bislang aufgrund der Unzulänglichkeiten der eingesetzten Feuchtemessverfahren nicht in befriedigender Weise möglich. Durch eine Zusammenarbeit von ATB Potsdam, dem Trocknerhersteller PETKUS und der Fa. TEWS Elektronik sollte genügend Kompetenz in allen Aspekten dieser Aufgabe vereinigt werden, um eine Lösung des Problems wahrscheinlich zu machen.

I.3. Planung und Ablauf des Vorhabens

In der Planungsphase des Projektes wurden verschiedene Arbeitspakete definiert, die im Projektverlauf im Wesentlichen in der vorgegebenen Reihenfolge abgearbeitet wurden:

I.3.1. Wahl eines geeigneten Sensors (TEWS)

In der ersten Projektphase war ein Sensor geeigneter Empfindlichkeit in Abhängigkeit vom Messgut und vom späteren Einbauort im Getreidetrockner zu wählen bzw. zu entwickeln. Hierzu mussten Testmessungen mit bereits bekannten Mikrowellenresonatortypen an einer möglichst großen Vielfalt von Messgütern mit möglichst großer Feuchtevariation durchgeführt werden.



Die Entwicklung eines neuen Sensors erfolgte zunächst durch numerische Simulation des elektrischen Feldes, anschließend erfolgten Konstruktion und mechanische Fertigung. Der Sensor sollte für möglichst viele Messgüter geeignet sein. Als Messgüter für den Sensor sollten die Getreidearten Weizen, Roggen, Gerste, Hafer und Mais zum Einsatz kommen.

I.3.2. Labormessungen (TEWS, ATB)

Um nach den Labormessungen einen geeigneten Sensor auswählen zu können, wurden mehrere Prototypen mit unterschiedlicher Konfiguration gebaut. Neben der Gutfeuchte wurde auch die Guttemperatur gemessen, die für die Temperaturkompensation des Feuchtesignals benötigt wird. Mit diesen Sensor - Prototypen wurden Labormessungen zur Bestimmung feuchteabhängiger Mikrowellen-Messwerte an den einzelnen Messgutproben durchgeführt. Als Referenzmethode diente die Feuchtebestimmung im Trockenschrank nach DIN 10350. Hierbei arbeiteten Fa. TEWS und ATB intensiv zusammen.

I.3.3. Materialabhängige Kalibrierung (TEWS, ATB)

Aus den Ergebnissen der umfangreichen Labormessungen wurden materialabhängige Kalibrierfunktionen im gesamten relevanten Feuchtebereich ermittelt. Die Wirkung des so genannten Maximumeffektes, der bei Getreide im Gutfeuchtebereich zwischen 15% und 20% auftritt, sollte eliminiert werden, um praktikable, durchgehende Kalibrierbeziehungen zu erhalten.

I.3.4. Testung der Sensor-Prototypen (ATB, TEWS)

Nach Abschluss der materialabhängigen Kalibrierung wurden die am besten geeigneten Mikrowellen - Sensoren ausgewählt. Die Sensoren wurden unter quasi realen Bedingungen der Getreidetrocknung im Pilotmaßstab getestet. Hierzu waren Trocknungsversuche an der ATB - Versuchsanlage vorgesehen. Jeweils ein Sensor wurde vor und nach der Trocknung (Trocknereintrag und -austrag) eingesetzt. An der Versuchsanlage wurden dazu sämtliche relevanten Messgrößen erfaßt und ausgewertet. Als Referenzmethode diente die Feuchtebestimmung im Trockenschrank nach DIN 10350.

I.3.5. Erprobung an industriellem Getreidetrockner (PETKUS, TEWS, ATB)

In der dritten Projektphase war die experimentelle Erprobung der Mikrowellen - Sensoren und der modellbasierten Verfahrensführung im großtechnischen Maßstab vorgesehen, die an einem industriellen Getreidetrockner der Fa. Petkus durchgeführt wurde. Die Mikrowellen - Gutfeuchtesensoren und weitere, für die Trocknerregelung und die Versuchsdurchführung erforderliche Messtechnik waren vor der Ernteperiode zu installieren. Die Versuche wurden im laufenden Trocknungsbetrieb vorgenommen. Diese Versuche sollten die prinzipielle Eignung und Einsetzbarkeit der neuartigen Online-Mikrowellensensoren demonstrieren.



I.4. Wissenschaftlicher und technischer Stand

I.4.1. Online-Getreidefeuchte-Messtechnik

Aus der Vielzahl der Messverfahren zur Bestimmung der Materialfeuchte von Schüttgütern (Kupfer 1997) werden zur kontinuierlichen Online - Messung in verfahrenstechnischen Prozessen überwiegend das NIR - Meßverfahren, das kapazitive und das Mikrowellen - Messverfahren eingesetzt (Freudenberger 1989; Theisen 1995; Heindl & Heindl 1998). Die Nah -Infrarot - Spektroskopie hat sich zur Online - Messung und Steuerung der Gutfeuchte beispielsweise in der Grünfuttertrocknung bewährt (Gasteiger 1992). Da mit diesem Messverfahren nur die Oberflächenfeuchte erfaßt wird, ist es für die kontinuierliche Getreide - Feuchtemessung jedoch ungeeignet.

Die Fa. Riela nutzt zur Online - Messung und Regelung der Getreidefeuchte in ihren Dächerschachttrocknern ein kapazitives Messverfahren (Böckelmann 2003; Gramatte & Häuser 2004; Riela GmbH 2005), bei dem ein dachähnlicher Einbau als Anode ausgeführt ist und die Trocknersäule selbst als Kathode dient. Das Trocknungsgut bildet das Dielektrikum. Vorteile dieses Messverfahrens sind das große Messvolumen, welches sich über den gesamten Trocknerquerschnitt erstreckt und über das die Gutfeuchte gemittelt wird, sowie breite Feuchte- und Temperatur - Einsatzbereiche. Dadurch kann diese Messtechnik an beliebigen Positionen im Trockner eingesetzt werden. Nachteilig ist der große Aufwand für die Kalibrierung, die nur im eingebauten Zustand im Trockner für die verschiedenen Trocknungsgüter vorgenommen werden kann. Produktinhomogenitäten können nicht erfasst werden. Auch die Reproduzierbarkeit, Überprüfung und Wartung der Messtechnik sind als problematisch einzuschätzen.

Fa. Laxhuber verwendet in ihren Getreidetrocknern die Trocknersteuerung vom Typ Stela FRA 450 auf Basis des Mikrowellen - Online - Messsystems TRIME-GW von der Fa. IMKO Micromodultechnik (Laxhuber 2001; Latein et al. 2003; Stela Laxhuber GmbH 2005). Dieser Getreidefeuchtesensor beruht auf einem dielektrischen Messverfahren, bei dem die Laufzeiten von elektromagnetischen Impulsen zur Messung der Dielektizitätskonstanten und damit des Wassergehaltes bestimmt werden (IMKO GmbH 2005). Der Vorteil dieser Messtechnik liegt in den weiten Einsatzbereichen für Gutfeuchte (5 bis 45%) und Umgebungstemperatur (0 bis 127°C). Dadurch kann der Sensor an beliebigen Messstellen im Trockner eingesetzt werden. Einschränkend ist zu bemerken, dass zuverlässige Messwerte nur unter gleich bleibenden Bedingungen wie Betriebszustand, Gutart und insbesondere Guttemperatur gewonnen werden können (Gramatte & Niethammer 2000). Während der Trocknung sind jedoch Schwankungen in der Gutfeuchte und Guttemperatur an ein und derselben Messstelle stets zu erwarten, wie beispielsweise am Trocknereintrag. Daher erscheint dieses Messgerät für den Einsatz in der Trocknerregelung nur beschränkt geeignet. Weitere Nachteile sind der vorhandene Schüttdichteeinfluss, der durch das Ein - Parameter - Messverfahren bedingt ist, und die notwendige Kalibrierung im eingebauten Zustand. Durch den Einsatz der Trocknersteuerung FRA 450 werden zwar Einsparungen durch Reduzierung der Untertrocknung erzielt (Latein et al. 2003), die Schwankungen der Austrags - Gutfeuchte sind jedoch immer noch für die Getreidetrocknung zu groß. Über weitere Online - Gutfeuchtemessgeräte berichten unter anderem Spitzlei (2002), Dantec (2005) und Intelscan (2005).

Dagegen bietet die Mikrowellen - Feuchtemesstechnik der Fa. TEWS Elektronik günstige Voraussetzungen für den Einsatz in Getreide - Trocknungsanlagen und in der Trocknerrege-



lung. Das physikalische Meßprinzip basiert auf dem patentierten Mikrowellen - Resonanz - Verfahren, mit dem Feuchte und Dichte (Schüttdichte) des Gutes unabhängig voneinander gemessen werden (Herrmann & Sikora 1997; TEWS 2005). Dies wird ermöglicht durch ein Zwei - Parameter - Messverfahren, bei dem sowohl Real- als auch Imaginärteil der Dielektrizitätskonstanten erfasst werden. Der Gutwassergehalt wird dabei über die Verstimmung und Dämpfung der Resonanzfrequenz des Resonators ermittelt.

Vorteile dieses Messverfahrens sind:

- sehr schnelle Messung (<< 1 sec),
- sehr genau durch hohe Wasserselektivität,
- Unabhängigkeit von Dichte und Gewicht (der Probe),
- zerstörungsfreie Messung bei sehr geringer Mikrowellenleistung (< 10 mW),
- Unabhängigkeit von der Farbe des Gutes,
- kein Einfluss von ionischen Bestandteilen und Salzen,
- langzeitstabile und weitgehend sortenunabhängige Kalibration,
- automatische Temperaturkompensation.

Aufgrund der geringen Mikrowellenleistung kommt es nicht zu einer Erwärmung oder chemischen Veränderung des Gutes. Die Mikrowellenmessung erfasst das gesamte physikalisch gebundene Wasser, sowohl das Oberflächenwasser als auch das durch Kapillar - Kondensation gebundene Wasser. Die hohe Wasserselektivität wird erreicht, da größere Molekülgruppen oder Ionen den Feldänderungen nicht folgen und somit die Messung nicht stören. Der Sensor ist für den industriellen Einsatz als Planarsensor ausgeführt und lässt sich dadurch beispielsweise gut in Apparatewände (z.B. Schüttgutrinnen, Bunkerwände) integrieren. Dieses Mikrowellen - Resonanz - Verfahren wird bereits erfolgreich zur Steuerung verfahrenstechnischer Prozesse wie Mischen, Pressen, Befeuchten und Trocknen von Schüttgütern sowie in der Qualitätskontrolle eingesetzt, wie z.B. bei Tabak oder Kaffee. Das Messverfahren wird auch im Laborbereich und als Schnellmessmethode verwendet (Riou & Herrmann 1998).

I.4.2. Literatur

- Böckelmann, M. (2003): Qualitätssicherung durch dokumentierte Trocknung. Mühle + Mischfutter, *140* 23, S. 689-691.
- Dantec (2005): Computer control system for continuous and semi-continuous grain dryers. Dantec Electronics Ltd., Waterloo, Canada.
- DIN 10350 (1967): Bestimmung des Feuchtegehaltes von Getreide und Getreideerzeugnissen. Beuth Verlag, Berlin.
- Freudenberger, A. (1989): Möglichkeiten der Feuchtemessung bei verfahrenstechnischen Trocknungsprozessen. Chem.-Ing.-Technik, *61*, S. 953-957.

Gasteiger, A. (1992): Online-Feuchtemessung. Die Mühle + Mischfuttertechnik, 129 51/52, S. 749.

Gramatte, W.; Häuser, S. (2004): RIELA Durchlauftrockner GDT 200. DLG-Prüfbericht Nr. 5360, DLG Groß-Umstadt.



- Gramatte, W.; Niethammer, F. (2000): Inline Feuchteerfassungssystem TRIME[®]-GW. DLG Prüfbericht Nr. 4866, DLG Groß-Umstadt.
- Heindl, A.; Heindl, Th. (1998): Kontinuierliche Feuchtemessung zur Regelung von Bandtrocknern. Z. Arzn. Gew. Pfl., *3*, S. 146-154.
- Herrmann, R.; Sikora, J. (1997): Mikrowellen-Feuchtemesstechnik mit Resonatoren und ihre Anwendung. In: Kupfer, K.: Materialfeuchtemessung. Expert Verlag, Renningen, Kapitel 17, S. 291-310.

IMKO Micromodultechnik GmbH Ettlingen (2005): Internet (www.imko.de).

- Intelscan (2005): Intelscan ehf., Impra Idntaeknistofnun, Reykjavik / Iceland, Internet (www.intelscan.is).
- Kupfer K. (1997): Materialfeuchtemessung. Expert Verlag, Renningen-Malmsheim.
- Latein, T.; Blume, P.; Köhler, K.; Ruf, R. (2003): Erfahrungen mit einer Trocknersteuerung im Feldeinsatz. Mühle + Mischfutter, *140* 16/17, S. 481-484.

Laxhuber, T. (2001): Europas größte Mais-Trocknungsanlage. Mühle + Mischfutter, 138, 23.

- Riela Getreide- & Mischfuttertechnik GmbH (2005): Internet (www.riela.de).
- Riou, H.; Herrmann, R. (1998): Schnellmessmethode für Mischfutterfeuchte mit Mikrowellentechnik. Sonderdruck aus: Kraftfutter, *11*, S. 2-4.
- Spitzlei, M. (2002): Prozessautomatisierung und Optimierung durch Online-Feuchtemessung. Mühle + Mischfutter, *139*, 20, S. 579-580.

Stela Laxhuber GmbH Massing (2005): Internet (www.stela.de).

Theisen, K.-H. (1995): Mit Mikrowellen Feuchte im Prozess messen. Verfahrenstechnik, 29, 3, S. 66-68.

I.5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Das Teilprojekt TP 'Sensor zur online - Getreidefeuchtemessung' wurde in Zusammenarbeit der Firmen PETKUS und TEWS Elektronik und dem ATB Potsdam bearbeitet.



Teil II Eingehende Darstellung

II.1. Erzielte Ergebnisse

II.1.1. Grundlagen

II.1.1.1. Grundlagen des Mikrowellen - Resonatorverfahrens

Das Mikrowellen - Resonatorverfahren ist ein hochfrequentes Messverfahren, das für Laboroder Prozessanwendungen geeignet ist. Als Sensoren kommen entweder Hohlraumresonatoren oder Streufeldresonatoren zum Einsatz. Die jeweils zur Messung benutzte Resonanz wird durch zwei Parameter charakterisiert (Bild 1): die Resonanzfrequenz f_0 und die Halbwertsbreite w_0 der Resonanzkurve.



Bild 1: Resonanzkurve

Wird ein Messgut in den Resonator eingebracht bzw. bei Streufeldresonatoren mit dem Resonator in Kontakt gebracht, sinkt die Resonanzfrequenz, und gleichzeitig nimmt die Halbwertsbreite der Resonanzkurve zu, wie Bild 2 veranschaulicht. Bei jeder Messung wird die Veränderung dieser beiden Resonanzparameter bei Belastung des Resonators mit Messgut gemessen. Die Veränderung beider gemessener Parameter ist in gleicher Weise abhängig von der Masse bzw. der Dichte des Messgutes, jedoch in unterschiedlicher Weise von seiner Feuchte. Der Quotient der beiden Messgrößen ist deshalb nur abhängig von der Messgutfeuchte. Dieser Quotient ist also ein geeigneter Wert zur dichte- und masseunabhängigen Feuchtemessung. Im Folgenden wird die Kalibration der Feuchtemessung beschrieben.





Bild 2: Resonanzkurven des leeren und des gefüllten Resonators

Die erste Messgröße ist die Resonanzfrequenzverschiebung A in Hz:

$$A = f_0 - f_m \tag{1}$$

mit

f₀: Resonanzfrequenz des leeren Resonators in Hz f_m: Resonanzfrequenz des gefüllten Resonators in Hz

Die zweite Messgröße ist die Vergrößerung der Halbwertsbreite der Resonanz B in Hz:

$$\mathsf{B} = \mathsf{w}_{\mathsf{m}} - \mathsf{w}_{\mathsf{0}} \tag{2}$$

mit w_0 : Halbwertsbreite der Resonanz des leeren Resonators in Hz w_m : Halbwertsbreite der Resonanz des gefüllten Resonators in Hz

Aus diesen beiden Messwerten erfolgt die Berechnung eines dichte- bzw. masseunabhängigen Mikrowellen - Feuchte - Wertes Φ :

$$\Phi = B/A \text{ bzw. } \Phi = \arctan(B/A)$$
(3)

Da die beiden Messwerte A und B in gleicher Weise von der Dichte bzw. der Masse des Messgutes abhängen, ist der Quotient B/A dichte- bzw. masseunabhängig. Er hängt nur von dem Feuchtegehalt des Messgutes ab. Die Bildung des Arkustangens dieses Quotienten kann erfolgen, um den Wertebereich des dimensionslosen Mikrowellen - Feuchte - Wertes Φ auf $\Phi \in [0, 1]$ zu reduzieren.



Der Mikrowellen - Feuchte - Wert Φ ist also die geeignete Größe zu Kalibration einer dichtebzw. masseunabhängigen Feuchtemessung. In den meisten Fällen kann ein linearer Zusammenhang zwischen Φ und der Materialfeuchte u angenommen werden:

$$u = a_1 \cdot \Phi + a_2$$

mit u: Materialfeuchte des Messgutes in %
 a₁, a₂: Kalibrationskoeffizienten
 Φ: Mikrowellen - Feuchte - Wert

In Bereichen sehr hoher oder niedriger Feuchten oder bei der Messung spezieller Messgüter kann ein nichtlinearer Zusammenhang zwischen u und Φ vorliegen. In diesem Fall muss eine andere Kalibrationsfunktion verwendet werden.

Da die Messung der Veränderung der beiden Resonanzparameter (Resonanzfrequenz f und Halbwertsbreite w) masse- bzw. dichteabhängig ist, kann eine zusätzliche Dichte- bzw. Massemessung erfolgen. Diese Dichte- bzw. Massemessung kann unabhängig von der Materialfeuchte erfolgen.

II.1.1.2. Kalibration der Getreidemessung

Wie sich im Verlauf des Projektes zeigte, ist im Falle der Feuchtemessungen in Getreide eine polynomische Beziehung zweiter Ordnung zwischen Materialfeuchte und dem Mikrowellen - Feuchtewert Φ am geeignetsten. Beziehung (5) zeigt eine Kalibrationsbeziehung, die die Produkttemperatur nicht berücksichtigt:

$$u = a_1 \cdot \Phi^2 + a_2 \cdot \Phi + a_3 \tag{5}$$

mit

u: Materialfeuchte in % a_i: Kalibrationskoeffizienten Φ: dimensionsloser Mikrowellen - Feuchtewert

Eine Feuchtekalibration kann außerdem über die Verschiebung der Resonanzfrequenz A oder die Vergrößerung der Halbwertsbreite B erfolgen. Eine solche Feuchtemessung ist allerdings nicht unabhängig von der Masse bzw. der Dichte des jeweiligen Messgutes.

Beziehung (6) zeigt eine Kalibrationsbeziehung zur Feuchtemessung über die Verschiebung der Resonanzfrequenz A:

$$u = b_1 \cdot A + b_2 \tag{6}$$

mit

u: Materialfeuchte in % b: Kalibrationskoeffizienten

A: Verschiebung der Resonanzfrequenz in MHz

(4)



Bei stark schwankenden Produkttemperaturen, die bei einem Trocknungsverfahren vorkommen können, muss die Produkttemperatur gemessen und bei der Kalibration berücksichtigt werden. So wird aus Beziehung (5) die folgende Beziehung (7):

$$u = a_1 \cdot \Phi^2 + a_2 \cdot \Phi + a_3 \cdot \Phi \cdot T + a_4 \cdot T + a_5$$
(7)

mit

u: Materialfeuchte in % a: Kalibrationskoeffizienten

Φ: dimensionsloser Mikrowellen – Feuchtewert

T: Produkttemperatur in °C

Beziehung (8) ist die der Beziehung (6) entsprechende temperaturabhängige Kalibrationsbeziehung:

$$u = b_1 \cdot A + b_2 \cdot T + b_3$$
 (8)

mit

b_i: Kalibrationskoeffizienten

A: Verschiebung der Resonanzfrequenz in MHz

T: Produkttemperatur in °C

u: Materialfeuchte in %

II.1.2. Test verschiedener Resonatoren

Für die Anwendung der Getreidemessung im Trockner wurden zunächst Standardresonatoren der Fa. TEWS Elektronik erprobt. Für den Einbau in einen Getreidetrockner kommen als Streufeldsensoren nur planare Sensoren in Frage, da Koaxialsensoren ein zu kleines Messfeld aufweisen und der Einsatz von Hohlraumresonatoren für diese Messstelle ausgeschlossen ist. Verschiedene planare Sensoren der Fa. TEWS Elektronik sind in Bild 3 zu sehen. Diese Sensoren unterscheiden sich hinsichtlich des Durchmessers des Messfeldes, ihrer Empfindlichkeit und ihres Abstrahlverhaltens (Abstrahlung muss bei dem Mikrowellen -Resonatorverfahren vermieden werden). Es erfolgten also Testmessungen mit verschiedensten Sensoren an Weizen in einem weiten Feuchtebereich. Als geeignetste Sensoren wurden die beiden folgenden ausgewählt:

1. Sensor P66/50: Planarer Resonator mit geringerem Felddurchmesser, der sehr abstrahlresistent und deshalb zur Messung auch von sehr feuchtem Messgut geeignet ist,

2. Sensor P145/180: Planarer Resonator mit größerem Felddurchmesser, der sehr empfindlich ist (großes Messsignal) und trotzdem eine gute Abstrahlresistenz aufweist.





Bild 3: Planare Sensoren der Fa. TEWS Elektronik

II.1.3. Kalibrationsbeziehungen für verschiedene Getreidearten

Vor den jeweiligen Kalibrationsmessungen wurden von Mitarbeitern des ATB Potsdam Materialproben beschafft und durch Trocknung und Auffeuchtung Proben in einem weiten Feuchtebereich präpariert. Vor den Messungen wurde der Weizen auf die planaren Sensoren geschüttet. Es wurde jeweils die Verschiebung der Resonanzfrequenz A und der Mikrowellen -Feuchtewert Φ gemessen. Jede Materialprobe wurde dreimal gemessen, wobei die Lage des Getreides auf dem Sensor durch Schütteln variiert wurde. Die Referenzfeuchten wurden jeweils nach DIN 10350 bestimmt.

II.1.3.1. Kalibrationsmessungen an Weizen

Weizen ist, zumindest in Europa, das am häufigsten geerntete Getreide. Deshalb wurden an diesem Messgut die meisten Messungen durchgeführt.

II.1.3.1.1. Kalibrationsmessungen an Weizen ohne Berücksichtigung der Temperatur

Für diese Kalibrationsmessungen wurde ein planarer Sensor des Typs TEWS P145/180 verwendet. Als Versuchsgut dienten Proben von naturfeuchtem Weizen, die zwei Getreidechargen unterschiedlicher Feuchte von ca. 15% bzw. 18% entnommen wurden. Durch Trocknung und Befeuchtung einzelner Proben ist der Feuchtebereich auf 7% bis 29% erweitert worden. Die Kalibration wurde durch wiederholte Messungen an ruhendem Produkt durchgeführt. Es wurden jeweils die Verschiebung der Resonanzfrequenz A und der Mikrowellen - Feuchtewert Φ gemessen. Bilder 4 und 5 zeigen die Mittelwerte der gemessenen Mikrowellen - Feuchtewerte Φ und der Verschiebungen der Resonanzfrequenz A aller Messungen in Abhängigkeit von der Feuchte des Messgutes.

Bild 4 zeigt die Mittelwerte der Mikrowellen - Feuchtewerte Φ in Abhängigkeit von der Feuchte des Messgutes. Da diese Werte ein Maximum bei einer Feuchte von ca. 21% aufweisen, ist eine Feuchtemessung über den Mikrowellen - Feuchtewert Φ nur bis zu einer Feuchte



von ca. 19% möglich. Das Maximum resultiert aus den dielektrischen Eigenschaften des feuchten Weizens, ist also durch Materialeigenschaften des Messgutes bedingt. Nach einem Durchlauf des Getreides durch den Trockner wird der Feuchtegehalt des Messgutes einen Wert von 19% nicht übersteigen. Am Austrag des Trockners ist deshalb die dichte- bzw. masseunabhängige Feuchtemessung über den Mikrowellen - Feuchtewert Φ einsetzbar. Höhere Feuchtegehalte treten dagegen am Guteintrag des Trockners auf. Hier ist eine alleinige Feuchtemessung über den Mikrowellen - Feuchtemessung über den Mikrowellen.

Im Bild 5 sind die Mittelwerte der Verschiebungen der Resonanzfrequenz A in Abhängigkeit von der Feuchte des Messgutes dargestellt. Eine Feuchtemessung über die Verschiebungen der Resonanzfrequenz A ist im gesamten betrachteten Feuchtebereich von 7% bis 29% möglich. Diese Feuchtemessung ist allerdings masse- bzw. dichteabhängig.



Bild 4: Kalibrationsmessungen: Mikrowellen - Feuchtewert Φ in Abhängigkeit von der Feuchte





Bild 5: Kalibrationsmessungen: Verschiebung der Resonanzfrequenz A in Abhängigkeit von der Feuchte



Bild 6: Kalibrationsmessungen: Ergebnis der Feuchtemessung, SD = 0,51%

Für die Messung am Eintrag eines Getreidetrockners sind die beiden Möglichkeiten der Feuchtemessung kombinierbar. Für Verschiebungen der Resonanzfrequenz A bis zu 60 MHz (entspricht ca. 18% Feuchte, siehe Bilder 4 und 5) kommt Beziehung (5) zur An-



wendung, für Verschiebungen der Resonanzfrequenz A über 60 MHz hinaus Beziehung (6). Bild 6 zeigt das Ergebnis dieser Kombination. Die Standardabweichung sd zwischen den Feuchte - Referenzwerten und den durch Mikrowellenmessung bestimmten Feuchtewerten beträgt SD = 0,51% für den gesamten Feuchtebereich (7 - 29%). Die Standardabweichung sd für die dichteunabhängige Feuchtemessung (Beziehung (5)) bis zu einem Feuchtegehalt von 18% beträgt SD = 0,39%, für die dichteabhängige Feuchtemessung (Beziehung (6)) oberhalb von 17% Feuchte SD = 0,63%. Diese Ergebnisse wurden trotz Variation der Getreidedichte auf dem Sensor erreicht.

II.1.3.1.2. Kalibrationsmessungen an Weizen mit Berücksichtigung der Temperatur

Da die Mikrowellenresonatoren P145/180 und P66/50 als favorisierte planare Sensoren ermittelt wurden, wurde die temperaturabhängige Messung für diese kalibriert. Es erfolgten Messungen an Weizen mit Feuchten von 12% bis 25% und Temperaturen von 11°C bis 55°C. Die Messung der Temperatur des Messgutes erfolgte durch einen Infrarot - Temperatursensor.

Wie im Kapitel 3.1.1 gezeigt, sind für die beiden Sensoren P145/180 und P66/50 zwei Kalibrationsbeziehungen für verschiedene Feuchtebereiche notwendig.

Für den planaren Sensor P145/180 wurden die folgenden Ergebnisse erzielt:

Für Feuchtegehalte u von 12% bis 18% gilt die folgende Beziehung (9):

$$u = -7,0356 \cdot \Phi^2 + 15,4980 \cdot \Phi + 1,9038 \cdot \Phi \cdot T - 0,7396 \cdot T + 10,6693$$
(9)

Korrelationskoeffizient: $R^2 = 0,960$, Standardabweichung SD = 0,65%

Für Feuchtegehalte u von 18% bis 25% gilt die folgende Beziehung (10):

$$u = 0,1250 \cdot A - 0,0513 \cdot T + 8,8976$$
(10)

Korrelationskoeffizient: $R^2 = 0,645$, Standardabweichung SD = 0,53%

Die Kalibrationsbeziehungen gelten für Weizen mit Temperaturen von 11° C bis 55°C. Die Standardabweichung über den gesamten Feuchtebereich beträgt SD = 0,62%.





Bild 7: Feuchtemessung mit Kompensation der Produkttemperatur, Sensor P145/180

Für den planaren Sensor P66/50 wurden die folgenden Ergebnisse erzielt: Für Feuchtegehalte u von 12% bis 18% gilt die folgende Beziehung (11):

$$u = -9,7818 \cdot \Phi^2 + 40,4469 \cdot \Phi + 1,3195 \cdot \Phi \cdot T - 0,5006 \cdot T + 2,3156$$
(11)

Korrelationskoeffizient: $R^2 = 0,992$, Standardabweichung SD = 0,31%

Für Feuchtegehalte u von 18% bis25% gilt die folgende Beziehung (12):

$$u = 2,1732 \cdot A - 0,1381 \cdot T + 10,0023$$
(12)

Korrelationskoeffizient: $R^2 = 0,991$, Standardabweichung SD = 0,19%

Die Kalibrationsbeziehungen gelten für Weizen mit Temperaturen von 11° C bis 55°C. Die Standardabweichung über den gesamten Feuchtebereich beträgt SD = 0,27%.





Bild 8: Feuchtemessung mit Kompensation der Produkttemperatur, Sensor P66/50

II.1.3.2. Kalibrationsmessungen an Roggen, Gerste und Tritikale

Es wurden Proben mit unterschiedlichen Feuchten im Bereich von ca. 5 – 36% präpariert. Dabei kamen wiederum die Mikrowellenresonatoren P145/180 und P66/50 zum Einsatz. Bilder 9 - 11 zeigen, dass bei allen drei Getreidesorten der Maximum - Effekt auftritt. Für Roggen zeigt sich das Maximum bei einer Feuchte von ca. 22%, bei Gerste bei ca. 23% und bei Tritikale bei ca. 21,5%. Der Messbereich für die dichteunabhängige Feuchtemessung ist hierdurch, wie auch bei Weizen, eingeschränkt. Eine Feuchtemessung über den gesamten Feuchtebereich kann über eine kombinierte Kalibration erfolgen, wie oben bei Weizen gezeigt wurde.





Bild 9: Roggen: Mikrowellen - Feuchtewert Φ in Abhängigkeit von der Feuchte



Bild 10: Gerste: Mikrowellen - Feuchtewert Φ in Abhängigkeit von der Feuchte





Bild 11: Tritikale: Mikrowellen - Feuchtewert Φ in Abhängigkeit von der Feuchte

II.1.3.3. Kalibrationsmessungen an Hafer und Mais

Es wurden Proben mit unterschiedlichen Feuchten im Bereich von ca. 5 – 30% präpariert. Dabei kamen wiederum die Mikrowellenresonatoren P145/180 und P66/50 zum Einsatz. Bilder 12 - 13 zeigen, dass bei beiden Getreidesorten der Maximum - Effekt auftritt. Für Hafer zeigt sich das Maximum bei einer Feuchte von ca. 22% und bei Mais bei ca. 20%. Der Messbereich für die dichteunabhängige Feuchtemessung ist hierdurch, wie auch bei Weizen, eingeschränkt. Eine Feuchtemessung über den gesamten Feuchtebereich kann über eine kombinierte Kalibration erfolgen, wie oben bei Weizen gezeigt wurde.

Für Mais, der oft höhere Feuchten als die anderen Getreidesorten aufweist, ist im hohen Frequenzbereich die Verwendung eines unempfindlicheren Sensors nötig, als bei den Versuchen eingesetzt wurde.





Bild 12: Hafer: Mikrowellen - Feuchtewert Φ in Abhängigkeit von der Feuchte



Bild 13: Mais: Mikrowellen - Feuchtewert Φ in Abhängigkeit von der Feuchte



II.1.4. Entwicklung neuer Sensoren - Erweiterung des Messbereichs

II.1.4.1. Sensorentwicklung

Ziel der Entwicklung neuer Streufeldsensoren für den Einsatz im Getreidetrockner war eine deutliche Erweiterung des messbaren Feuchtebereichs für Getreide. Diese Entwicklung muss unter Berücksichtigung der dielektrischen Eigenschaften feuchten Getreides erfolgen. Wichtiges Instrument zur Neuentwicklung von Sensoren ist die numerische Simulation der elektrischen Felder. Hierzu kam das Finite - Elemente - Programm HFSS (Fa. Ansoft) zum Einsatz. Bild 14 zeigt die simulierte Verteilung des elektrischen Feldes auf der Oberfläche eines planaren Sensors. Maxima und Minima des elektrischen Feldes sind auf einem Kreisring angeordnet. Diese Anordnung führt zur Vermeidung von Abstrahlung, da sich die einzelnen Feldanteile im Fernfeld auslöschen.

Unter Berücksichtigung der dielektrischen Eigenschaften feuchten Getreides ist es möglich, Feldanordnungen zu schaffen, unter deren Verwendung zur Feuchtemessung das auftretende Maximum zu höheren Feuchten verschoben werden kann. Somit ist es möglich, den messbaren Bereich für die dichteunabhängige Feuchtebestimmung auszudehnen. Im Falle der Getreidemessung ist dieses sehr effektiv, da die in der Praxis vorliegende maximale Feuchte des Getreides in den meisten Fällen im Bereich des bei den Standardsensoren auftretenden Maximums liegt.



Bild 14: Simulierte Verteilung des elektrischen Feldes auf der Oberfläche eines planaren Sensors

Im Verlauf des Projektes wurden zahlreiche Simulationen durchgeführt und verschiedene Sensoren konstruiert, gebaut und erprobt. Bild 15 zeigt den Prototypen des Sensors P66/50/4, der die besten Messeigenschaften aufwies. Die im Folgenden präsentierten Feuchtemessungen im erweiterten Messbereich sind mit diesem Sensor aufgenommen worden.





Bild 15: Prototyp des Sensors P66/50/4 für den erweiterten Feuchtemessbereich

II.1.4.2. Messungen an Weizen

Bild 16 zeigt den mit dem Sensor P66/50/4 gemessenen Mikrowellen - Feuchtewert Φ in Abhängigkeit von der Feuchte bei der Messung an Weizen. Es wurde ein Polynom 3. Grades angepasst. Aus den Fit-Parametern ergibt sich die Position des Maximums im Feuchtespektrum. Das Maximum liegt bei Verwendung des neuen Sensors P66/50/4 erst bei einer Feuchte von etwa 28%.



Bild 16: Weizen: Mikrowellen - Feuchtewert Φ in Abhängigkeit von der Feuchte, Sensor P66/50/4



Die dichteunabhängige Feuchtemessung ist mit den klassischen Sensoren bis zu Feuchten von ca. 19% möglich. Mit dem neuen Sensor P66/50/4 kann dagegen die Feuchte dichteunabhängig bis ca. 24,5% gemessen werden.

Die Lage des Maximums, die den möglichen dichteunabhängigen Messbereich begrenzt, ist von der Temperatur der Probe abhängig. Es wurden deshalb temperaturabhängige Messungen an Weizen mit Feuchten von 12% bis 25% und Temperaturen von 11°C bis 55°C durchgeführt, wie auch mit den herkömmlichen Sensoren (siehe oben).

Wie Bild 17 zeigt, schränkt eine Erhöhung der Produkttemperatur den messbaren Feuchtebereich ein. Die Sättigungsfeuchte sinkt bei Erhöhung der Guttemperatur bei den niedrigen Frequenzen um ca. 1,5% / 10°C und bei der hohen Frequenz um ca. 2% / 10°C. Für den neuen Sensor P66/50/4 wurde die Lage des Maximums bei 30°C zu 22% und bei 45°C zu 19 – 20% ermittelt.



Bild 17: Lage des Maximums über der Guttemperatur für die drei verwendeten Sensoren

Dennoch kann die Feuchtemesstechnik in jedem Bereich eines handelsüblichen Getreidetrockners eingesetzt werden. Bild 18 zeigt einen Dächerschachttrockner, Durchlauftrockner Typ WS' der Firma PETKUS, als Beispiel einer Installationsumgebung der Feuchtesensorik. Über der Höhe ist auch die typische Guttemperatur aufgetragen. Am Ende der Trocknungszone wird eine Maximaltemperatur von ca. 45°C erreicht.





Bild 18: Dächerschachttrockner, Durchlauftrockner Typ WS' der Firma Petkus, als Beispiel einer Installationsumgebung der Feuchtemesstechnik und Guttemperatur über der Höhe

In Bild 19 sind die Lagen des Maximums für diese drei Trocknerzonen noch einmal zusammengestellt. Am Ende der Trocknungszone und am Auslass liegen maximale Gutfeuchten



vor, die mit den herkömmlichen Sensoren der Fa. TEWS Elektronik sehr gut erfasst werden können. Am Eingang kann mit den neuen Sensoren gearbeitet werden.

Die Mikrowellen - Feuchtemesstechnik lässt sich also im gesamten Feuchte- und Temperaturspektrum eines Getreidetrockners einsetzen.



Bild 19: Lagen des Maximums in den verschiedenen Einbausituationen am Trocknereingang, dem Ende der Trocknungszone und am Trocknerausgang

II.1.4.3. Messungen an Roggen, Gerste und Tritikale

Die Bilder 20 - 22 zeigen die gemessenen Mikrowellen - Feuchtewerte Φ für Roggen, Tritikale und Gerste für den neuen Sensor P66/50/4. Die durchgezogenen Kurven sind Polynome 3. Ordnung. Bei Verwendung der neuen Sensoren ergibt sich wiederum eine deutliche Verschiebung des Maximums hin zu höheren Feuchten, wenngleich der Effekt nicht so ausgeprägt ist wie bei Weizen, wie Bild 23 zeigt.

Auch bei Gerste, Roggen und Tritikale kann also der Feuchtemessbereich durch die Verwendung neuer Sensoren vergrößert werden.





Bild 20: Roggen: Mikrowellen - Feuchtewert Φ in Abhängigkeit von der Feuchte, Sensor P66/50/4



Bild 21: Gerste: Mikrowellen - Feuchtewert Φ in Abhängigkeit von der Feuchte, Sensor P66/50/4





Bild 22: Tritikale: Mikrowellen - Feuchtewert Φ in Abhängigkeit von der Feuchte, Sensor P66/50/4



Feuchtemessbereich bei Weizen, Gerste, Roggen und Tritikale

Bild 23: Feuchtemessbereich für Weizen, Gerste, Roggen und Tritikale bei Verwendung unterschiedlicher Sensoren



II.1.4.4. Messungen an Hafer und Mais

Die Bilder 24 - 25 zeigen die gemessenen Mikrowellen - Feuchtewerte Φ für Hafer und Mais für den neuen Sensor P66/50/4. Die durchgezogenen Kurven sind Polynome 3. Ordnung. Bei Verwendung der neuen Sensoren ergibt sich wiederum eine deutliche Verschiebung des Maximums hin zu höheren Feuchten, wie Bild 26 zeigt.

Auch bei Hafer und Mais kann der Feuchtemessbereich durch die Verwendung der neuen Sensoren vergrößert werden. Für Mais, der oft höhere Feuchten als die anderen Getreidesorten aufweist, ist im hohen Frequenzbereich die Verwendung eines unempfindlicheren Sensors nötig, als bei den Versuchen eingesetzt wurde.



Bild 24: Hafer: Mikrowellen - Feuchtewert Φ in Abhängigkeit von der Feuchte, Sensor P66/50/4





Bild 25: Mais: Mikrowellen - Feuchtewert Φ in Abhängigkeit von der Feuchte, Sensor P66/50/4



Bild 26: Feuchtemessbereich für Hafer und Mais bei Verwendung unterschiedlicher Sensoren



II.1.5. Messungen an dem Labor - Getreidetrockner in Potsdam

Nach der Kalibration erfolgte ein Praxistest der Feuchtemessung an einem Dächerschachttrockner im Technikumsmaßstab (Bild 27) bei der Trocknung von Weizen. Es wurde ein ca. neunstündiger Dauerbetrieb des Trockners messtechnisch begleitet, wobei das in den Trockner eingetragene Material aus zwei verschiedenen Getreidechargen stammte, die unterschiedliche Feuchten von ca. 15% bzw. 18% aufwiesen. Die Materialfeuchte wurde mit Mikrowellenresonatoren am Trocknereintrag und -austrag gemessen und stichprobenartig durch Ofentrocknung überprüft. Am Trocknereintrag lagen die gemessenen Feuchten zwischen ca. 10% und 18%, am Trockneraustrag bei 10% bis 16%. Die niedrigen Feuchtewerte sind auf den Anfahrprozess des Trockners mit bereits getrocknetem Getreide und das Nachfüllen von trockenem Getreide gegen Ende des Versuches zurückzuführen.

Am Eingangsbereich des Trockners wurde einerseits mit dem Mikrowellensensor P145/180 gemessen und andererseits mit dem neuen Sensor P66/50/4. Am Ausgang des Trockners wurde mit dem Standardsensor P66/50 gemessen, da hier nur niedrige Materialfeuchten erwartet wurden.



Bild 27: Dächerschachttrockner des ATB Potsdam - Bornim

Es konnten sehr gute Eigenschaften der Mikrowellenmessung im Praxiseinsatz am Getreidetrockner für die Standardsensoren und die neuen Sensoren gezeigt werden. Im Bild 28 und 29 sind die Messergebnisse am Trocknereintrag als Vergleich der Referenzmessungen zu den Mikrowellenmessungen für die Messungen mit dem Standardsensor P145/180 dargestellt. Bilder 30 und 31 zeigen die entsprechenden Ergebnisse mit dem neuen Sensor P66/50/4. Die ermittelten Standardabweichungen zwischen Referenz- und Mikrowellenmes-



sungen sind gleich groß und betragen SD = 0,22%. Es lag allerdings kein sehr feuchtes Getreide vor, das die Messung mit einem Sensor neuen Typs nötig gemacht hätte.

Bilder 32 und 33 zeigen die Ergebnisse am Trockneraustrag, die mit dem Standardsensor P66/50 erzielt wurden. Bei den Versuchen wurde eine starke Inhomogenität der Getreidefeuchte über den Querschnitt des Auslasses des Trockners festgestellt. Da das durch den Mikrowellenresonator erfasste Messgut im allgemeinen nicht dasselbe war, wie das, welches für die Referenzmessung verwendet wurde (u.a. bedingt durch die Probenahme), ergab sich eine größere Abweichung zwischen Mikrowellenmessungen und Referenzmessungen am Trockneraustrag als am Trocknereintrag. Die Standardabweichung beträgt deshalb am Trockneraustrag SD = 0,55%.



Bild 28: Messungen am Trocknereintrag mit dem Sensor P145/180, SD = 0,22%





Bild 29: Messungen am Trocknereintrag mit dem Sensor P145/180, SD = 0,22%



Feuchte-Feuchte-Diagramm

Bild 30: Messungen am Trocknereintrag mit dem Sensor P66/50/4, SD = 0,22%





Bild 31: Messungen am Trocknereintrag mit dem Sensor P66/50/4, SD = 0,22%



Bild 32: Messungen am Trockneraustrag mit dem Sensor P66/50, SD = 0,55%





Bild 33: Messungen am Trockneraustrag mit dem Sensor P66/50, SD = 0,55%

II.1.6. Messungen an einem Getreidetrockner in der Praxis

An einem Getreidetrockner bei einem Kunden der Fa. PETKUS wurden an Gerste weitere Praxistests durchgeführt. Die Materialfeuchte wurde mit Mikrowellenresonatoren am Trocknereintrag und -austrag gemessen und stichprobenartig durch Ofentrocknung überprüft. Am Trocknereintrag lagen die gemessenen Feuchten zwischen ca. 10% und 18%, am Trockneraustrag bei 13,5% bis 15%. Am Eingangsbereich des Trockners wurde mit dem neuen Mikrowellensensor P66/50/4 gemessen. Am Ausgang des Trockners wurde mit dem Standardsensor P145/180 gemessen, da hier nur niedrige Materialfeuchten erwartet wurden.

Bild 34 zeigt Messungen am Trockneraustrag mit dem Sensor P145/180. Der Sensor war am Auslauftrichter des Trockners montiert, der periodisch mit Getreide gefüllt und entleert wird. Nach jeder Leerung kann somit eine automatische Leermessung erfolgen Bei der Mikrowellenmessung erfolgten Mittelwertbildungen über die Signale jeweils einer Minute, alle 10 Minuten wurde eine Referenz - Feuchteprobe entnommen. Die in Bild 34 gezeigte Messperiode beträgt ca. 2 h, die Standardabweichung zwischen Mikrowellen- und Referenzmessung beträgt SD = 0,2%.





Bild 34: Messungen am Trockneraustrag mit dem Sensor P145/180

Bild 35 zeigt Messungen am Trocknereintrag mit dem Sensor P66/50/4. Der Sensor war am Einlauftrichter des Trockners montiert, der periodisch mit Getreide gefüllt und entleert wird. Nach jeder Leerung konnte somit eine automatische Leermessung erfolgen. Bei der Mikrowellenmessung erfolgten Mittelwertbildungen über die Signale jeweils über eine Minute, alle 10 Minuten wurde eine Referenz - Feuchteprobe entnommen.

Der Mikrowellensensor war jedoch ungünstig positioniert und wurde bei der Befüllung des Einlauftrichters nur selten mit Getreide bedeckt. Das gemessene Mikrowellen - Feuchteprofil in Bild 35 ist deshalb sehr lückenhaft. Der Einbauort am Einlauftrichter ist also noch zu optimieren. Es können hier Messpositionen gefunden werden, an denen der Sensor regelmäßig bedeckt wird.




Bild 35: Messungen am Trocknereintrag mit dem Sensor P66/50/4

II.1.7. Zusammenfassung der Ergebnisse

Im Teilprojekt TP 'Sensor zur online - Getreidefeuchtemessung' wurden erfolgreich Sensoren zur Messung der Feuchte von Getreide in Getreidetrocknern entwickelt. Das Teilprojekt TP 1.3 wurde in Zusammenarbeit der Fa. TEWS Elektronik mit dem ATB Potsdam und dem Trocknerhersteller PETKUS bearbeitet.

Für die Anwendung im Trockner wurden zunächst planare Standardresonatoren der Fa. TEWS Elektronik erprobt. Diese Sensoren unterscheiden sich hinsichtlich des Durchmessers des Messfeldes, ihrer Empfindlichkeit und ihres Abstrahlverhaltens. Es wurden zwei verschiedene Sensoren ausgewählt. Aufgrund des Auftretens eines Maximums bei den Mikrowellen - Feuchtemesswerten sind diese Sensoren nur am Austrag eines Trockners einsetzbar, aufgrund des hier vorliegenden reduzierten Feuchtebereiches.

Es mußte deshalb eine Neuentwicklung von Streufeldsensoren für den Einsatz im Getreidetrockner erfolgen, mit dem Ziel der Eliminierung oder zumindest Entschärfung des Maximum - Effektes der Mikrowellenmessung. Diese Entwicklung wurde erfolgreich durchgeführt. Die Verwendung dieser Sensoren führt zu einer signifikanten Erweiterung des messbaren Feuchtebereiches. Diese Sensoren können deshalb auch am Eintrag eines Getreidetrockners eingesetzt werden. Die Erweiterung des messbaren Feuchtebereiches konnte für Weizen, Roggen, Gerste, Tritikale, Hafer und Mais gezeigt werden. Die Produkttemperatur muss bei dem Einsatz der Sensoren berücksichtigt werden. Die Mikrowellen - Feuchtemesstechnik lässt sich im gesamten Feuchte- und Temperaturspektrum eines Getreidetrockners einsetzen.



Es erfolgten anschließend erfolgreiche Feuchtemessungen in Getreidetrocknern, zunächst an Weizen im Trockner des ATB Potsdam, außerdem an Gerste in einem Getreidetrockner bei einem Kunden der Fa. PETKUS.

II.2. Verwertbarkeit der Ergebnisse

Die erfolgreiche Sensorentwicklung und die erzielten Messergebnisse legen es nahe, das Verfahren in der Praxis einzusetzen. Die neuen Sensoren müssen noch vom Prototypen- in ein Produktstadium überführt werden. Dies muss konstruktiv unter Berücksichtigung der an Getreidetrocknern vorliegenden Rahmenbedingungen erfolgen. Anschließend können die Sensorsysteme an Getreidetrocknern eingesetzt werden. Eine Messung der Feuchte am Trocknerausgang ist aufgrund des reduzierten Feuchtebereiches auch mit den Standardsensoren der Fa. TEWS möglich.

II.3. Neue Ergebnisse in diesem Forschungsgebiet

Nach unseren Recherchen sind von dritter Seite keine für das Vorhaben relevanten FE - Ergebnisse im Projektzeitraum bekannt geworden.

II.4. Erfolgte Veröffentlichung der Ergebnisse

- Kocsis, L.; Schlemm, U.; Richter, H.; Mellmann, J.; Farkas, I. (2008): On-line Microwave Measurement of the Moisture Content of Wheat. Triennial Event of International Federation of Automatic Control (IFAC) Congress, Proceedings, Seoul 2008.
- Schlemm, U.; Richter, H.; Kocsis, L.; Mellmann, J. (2008): Feuchtemessung in Weizen mit der Mikrowellen-Resonanzmethode, Mühle + Mischfutter, *145* (23): 786-789.

II.5. Schlußwort

Das Gemeinschaftsprojekt ,Sensor zur online - Getreidefeuchtemessung' des Leibniz – Instituts für Agrartechnik Potsdam und der Fa. TEWS Elektronik wurde von beiden Seiten gut strukturiert und sorgfältig bearbeitet. Das Projekt wurde im Wesentlichen mit dem geplanten Personalaufwand und unter Bearbeitung der vorgesehenen Arbeitspakete durchgeführt. Es konnten gute Ergebnisse erzielt werden. Die Zusammenarbeit mit den Mitarbeitern des Leibniz-Instituts für Agrartechnik Potsdam-Bornim soll an dieser Stelle ausdrücklich gelobt werden.

Teilprojekt 1.4 "Kettenübergreifende Technikbewertung zur Abschätzung der sozio-ökonomischen und ökologischen Effizienz"

Berichterstatter: Annette Prochnow

Projektbearbeiter: René Maack

Teil I Kurzdarstellung

I.1. Aufgabenstellung

Die Aufgabenstellung des Teilprojektes gemäß Vorhabensbeschreibung bestand darin, im Sinne einer Technikfolgenabschätzung die Auswirkungen des Sensoreinsatzes in der Getreidekette zu erfassen, zu analysieren und zu bewerten. Diese Auswirkungen können z.B. in Veränderungen der Produktionsverfahren bestehen, in verbesserter Produktqualität und höherer Lebensmittelsicherheit, in der Umweltentlastung durch reduzierten Ressourceneinsatz, u.a. an Energie und Betriebsmitteln, in erhöhter Wirtschaftlichkeit durch steigende Erlöse und sinkende Aufwendungen sowie in verbesserten Arbeitsbedingungen. Die Kenntnis dieser Auswirkungen soll sowohl die Hersteller als auch die Anwender der Sensorsysteme unterstützen. Sie erhalten mit den Ergebnissen des Vorhabens Planungsgrundlagen für die Einordnung der Sensortechnik in die Produktionsketten und die Anpassung der Verfahren an sensorbedingte Veränderungen sowie Kenntnisse zur Abschätzung von wirtschaftlichen Folgen und Umweltwirkungen des Sensoreinsatzes.

Der Ablauf des Vorhabens folgte weitgehend der Planung gemäß Vorhabensbeschreibung.

Im Teilprojekt wurde an den wissenschaftlichen und technischen Stand bei der Technikbewertung und bei der Sensorentwicklung in der Produktionskette Getreide angeknüpft.

Zusammenarbeit bestand mit den Partnern aus den anderen Teilprojekten des Gesamtverbundes und mit landwirtschaftlichen Betrieben.

Teil II Eingehende Darstellung

II.1. Ergebnisse

II.1.1. Aktueller Stand des Sensoreinsatzes im Produktionsverfahren Getreide

Für das Produktionsverfahren Getreide wurde eine Übersicht über den aktuellen Stand des Einsatzes von Sensoren erstellt. Vom Anbau über die Ernte, Konservierung und Lagerung bis zur Verarbeitung wurden die zur Zeit angewendeten Sensoren ermittelt und bezüglich ihrer Kopplungsintensität und Wirkungen auf das Verfahren klassiert (Tab. 1). Dabei wurden diejenigen Sensoren berücksichtigt, die direkt mit dem Gut Getreide in Verbindung stehen. Sensorsysteme, die den Landwirt bei der Überwachung, Steuerung und Regelung seiner Maschinen und Geräte unterstützen, wurden hier nicht weiter betrachtet.

Schwerpunkte des Sensoreinsatzes in der Getreideernte sind gegenwärtig Anbau und Mähdrusch. Während des Anbaus werden derzeit verschiedene Sensorsysteme zur N-Düngung eingesetzt, die teilweise auch für die Ausbringung von Wachstumsreglern nutzbar sind. Weitere Sensoren dienen der teilflächenspezifischen Ausbringung von Totalherbiziden vor Beginn der Bodenbearbeitung und der Bestimmung von Bodeneigenschaften, um daraus eine gezielte Düngung abzuleiten. Zukünftige Sensorsysteme sollen Unkräuter, tierische und pilzliche Schaderreger erfassen und somit die Gesunderhaltung des Getreides unterstützen. Zudem soll in der Zukunft mit der Hilfe von nicht zerstörenden Analysesystemen schon im erntenahen Zeitraum ein Ergebnis zu den qualitätsbestimmenden Eigenschaften des Korns vorliegen. (Oebel 2006; Risius *et al.* 2007).

Bei der Getreideernte ist der Sensoreinsatz u.a. für die Ertragsbestimmung von Bedeutung. Volumenstrom, Kornfeuchte, Arbeitsgeschwindigkeit des Mähdreschers und Verluste werden mit Sensoren erfasst. Zusätzlich wird der momentane Standort des Mähdreschers über GPS ermittelt. Aus diesen Daten kann der Ertrag abgeleitet und kartiert werden. Während des Mähdruschs werden Sensoren des weiteren für die Bestimmung von Inhaltsstoffen des Korns wie Wasser, Protein, Stärke und Fett eingesetzt.

In der Getreidekonservierung wird mit Hilfe von Sensoren die Feuchtigkeit ermittelt und die Temperatur und Feuchtigkeit während der Lagerung überwacht. Die Bestimmung der Feuchte zum Trocknungsprozess ist schon seit vielen Jahren etabliert, aber immer noch mit Fehlern zur Regulierung des Trocknungsprozesses verbunden (siehe auch TP 1.3). Für die Qualitätssicherung bei Handelsgetreide können Einzelkornsortiermaschinen mit Kamerasystemen eingesetzt werden.

Der Praxiseinsatz der Sensoren ist je nach Fabrikat unterschiedlich, wobei einige Sensoren schon mehrere Jahre am Markt sind und kontinuierlich verbessert werden. Bei denjenigen Sensoren, die sich in der Einführung in die Praxis befinden, sind noch keine Berichte von umfangreichen Praxiseinsätzen bekannt.

Die Übersicht über den aktuellen Stand des Sensoreinsatzes dient zum einen einer besseren Einordnung der im Gesamtverbund entwickelten Sensoren in die vorhandene Sensortechnik im Produktionsverfahren Getreide. Zum anderen werden die bisherigen Schwerpunkte des Sensoreinsatzes verdeutlicht und offene Felder für weitere Entwicklungen angesprochen.

Tabelle 1: Sensoren in der Getreideproduktion

Sensor	Messgröße	Messprinzip	Steuer-/Regelgröße	Kopplung	weitere Wirkungen	Praxisein- satz				
Anbau	Anbau									
Crop-Meter	Pflanzenmasse	mechanisch, Auslen- kung des Pendels	Dünger- und PSM- Mengen	direkt, online	Aufwandmen- gen/Betriebsmitteleinsatz, Erträge, Umwelt, Kosten/Erlöse, gleichmä- ßigere Bestände ermöglichen schnellere Ernte, Inhaltsstoffe	ja				
soil doctor	Bodenart, KAK (Katio- nenaustauschkapazität) Stickstoff; Bodenfeuchte	elektrisch, Spannung im Boden	Düngermenge, vor allem N	direkt, offline	N-Menge, Ertrag, Kosten/Erlöse, Umwelt	ja				
Crop Circle	Bestandsdichte, Pflan- zenmasse	optisch, mit zwei eige- nen Lichtquellen und zwei Detektoren	Düngermenge, vor allem N	indirekt, Erstellen von Karten und dann düngen - individuelle Kor- rektur ist möglich	N-Menge, Ertrag, Kosten/Erlöse, Umwelt	ja				
MiniVeg N	Grünfärbung des Ge- treides, Laserlicht, Re- flexion des Lichtes	optisch, mit einem Laser wird das Chlo- rophyll zur Fluores- zenz angeregt und ein Detektor empfängt	Düngermenge (N)	direkt, online	N-Menge, Ertrag, Kosten/Erlöse, Umwelt	ja				
Yara-N- Sensor	Grünfärbung des Ge- treides, Reflexion des Lichtes	optisch, Reflexion des sichtbaren und nahinf- raroten Lichtes	Düngung mit N	direkt, online	N-Menge, Ertrag, Kosten/Erlöse, Umwelt	ja				

Tabelle 1 (Fortsetzung): Sensoren in der Getreideproduktion

Sensor	Messgröße	Messprinzip	Steuer-/Regelgröße	Kopplung	weitere Wirkungen	Praxisein- satz
Green Seeker	Grünfärbung des Ge- treides	optisch, eigene Licht- quelle	Düngung mit N	direkt, online	N-Menge, Ertrag, Kosten/Erlöse, Umwelt	ja
Weed Seeker	Pflanzenmasse – Un- krautbestand	optisch, eigene Licht- quelle	Herbizid-Einsatz (Total- herbizide)	direkt, online	Herbizidmenge, Kosten, Umwelt	in der Ein- führung
sehende Feld- spritze	unterschiedliche Pflan- zenarten	Kamera nimmt in be- stimmten Spektren Bilder auf, die mit Hilfe von Software nach Erkennungsmustern abgesucht werden	Herbizideinsatz in der Getreidekultur	indirekt, Erstellen von Karten und dann PS- Maßnahme- (oder schon online?)	Herbizidmenge, Kosten, Vermei- dung von Resistenzen, Umwelt	in der Ein- führung
Ernte				·		
accu harvest	Feuchte, Protein, Fett, Stärke	optisch, Transmission und Reflexion bei bestimmten Wellen- längen	nur messen der Größen und anlegen von Karten	keine, vielleicht getrennte Ernte	Erträge besser erfassen, besser Vermarkten, Auswerten für die kommende Frucht, Trennen nach bestimmten Qualitäten	in der Ein- führung
Verlust- sensoren	Körnerverluste direkt hinter dem Schütter	elektroakustisch, Dif- ferenzbildung Ertrag und Körner die über den Schüttler fallen	Dreschwerksein-stellung und Fahrgeschwindig- keit	direkt und indirekt	Ertrag, Mähdrescherflächenleis- tung, Kosten der Ernte, Stoppel- bearbeitung, Umwelt	ja
Feuchte- sensoren	Wassergehalt des Druschgutes	elektrische Leitfähig- keit, Kapazität	nur messen der Feuch- te, keine Regelung (evtl. Abbruch der Ernte)	keine, Nutzung zur Ertrags- kartierung	Auslasten der Mähdruschzeit und vielleicht Beeinflussen der Menge zu trocknendes Getreide	ja

Sensor	Messgröße	Messprinzip	Steuer-/Regelgröße	Kopplung	weitere Wirkungen	Praxisein- satz
Ertrags- messung, - kartierung	Volumen oder Masse- strom, Schnittbreite des Schneidwerkes, Fahr- geschwindigkeit und Feuchte	Volumen in der Eleva- torschale oder Masse- strom (elektromecha- nisch) am Elevato- rauswurf,	Keine Steuerung oder Regelung	Daten für die nächste Fruchtart nutzen zur Dün- gung	Optimierung der Düngung, Kosten, Erträge, Umwelt	ja
Trime GW	Dielektrizität, elektro- magnetischer Impuls in nicht magnetischen Stoffen	Ausbreitungs- geschwindigkeit einer elektro-magnetischen Welle	Durchlaufgeschwindig- keit, Verweildauer in der Trocknungszone, Tem- peratur wird nicht gere- gelt	direkt, online	Energieeinsparung, Kostenreduk- tion, Qualitätssicherung, Erlösstei- gerung, Umwelt	ja

Tabelle 1 (Fortsetzung): Sensoren in der Getreideproduktion

II.1.2. Betriebliche Verfahrensanalysen

Betriebliche Verfahrensanalysen erfolgten im Jahr 2008 in zwei landwirtschaftlichen Betrieben in Brandenburg. Diese Betriebe wurden nach einer ersten Kontaktaufnahme zu mehreren Betrieben und einer gezielten Auswertung der Vorgespräche ausgewählt. In den beiden Betrieben wurde eine ausführliche Datenerhebung zum Produktionsverfahren Getreide durchgeführt. Während und nach der Ernte wurden in den Betrieben Getreideproben zur Bestimmung von Mykotoxinen genommen, Kornfeuchten bestimmt und Zeitstudien beim Mähdreschereinsatz durchgeführt. Die Untersuchungen sollten Aufschluss darüber geben, ob zwischen den Ernte- und Konservierungskapazitäten und dem mikrobiellen Risiko ein Zusammenhang besteht. Die Daten wurden ebenfalls zu späteren Kalkulationen der Verfahrenskosten, des Arbeitszeit- und Energieeinsatzes bei unterschiedlichen Varianten des Sensoreinsatzes zur Erkennung von Mykotoxinen und Partientrennung verwendet (Kap. 1.3).

Der Betrieb A liegt in der Havelniederung und wird konventionell bewirtschaftet. Der Betrieb bewirtschaftet insgesamt 2.705 ha, davon 747 ha Ackerfläche mit sehr unterschiedlichen Bodenarten (Sand bis sandiger Lehm) sowie 1.867 ha Grünland. Im Anbau sind die beprobten Getreidearten Roggen, Triticale und Weizen. Die Fruchtfolge umfasst außerdem Winterund Sommergerste, Raps, Erbsen und Silomais. Der Pflug wird zur Saatbettbereitung verwendet. Der Pflanzenschutz erfolgt in Abhängigkeit vom Befallsdruck. Daher fand auf einigen Flächen keine Fungizidbehandlung ab dem Ährenschieben statt. Im Betrieb werden Rinder und Schweine gehalten, an die das Getreide verfüttert wird. Der Betrieb besitzt drei eigene Mähdrescher. Ein Teil der Ernte wird an den Getreidehandel verkauft und ein Teil selbst eingelagert. Letzterer wird kontinuierlich an den Viehbestand des Betriebes verfüttert. Somit ist hier eine ganzjährige Lagerung von Getreide vorhanden. Der Betrieb verfügt auch über die Möglichkeit, das Getreide in feuchten Erntejahren chemisch zu konservieren.

Betrieb B liegt im Fläming und bewirtschaftet seinen Betrieb ökologisch. Die Betriebsgröße beträgt 1.000 ha. Dabei handelt es sich ausschließlich um Ackerland mit der vorherrschenden Bodenart sandiger Lehm. Die Saatbeetbereitung wird mit dem Pflug vorgenommen. Im Anbau sind Roggen, Triticale und Dinkel, von denen Proben gezogen wurden. Weiterhin werden Gerste, Körnermais, Erbsen, Ackergras und Sonnenblumen angebaut. Der Betrieb hat einen eigenen Mähdrescher und lagert einen Teil seiner Ernte ein. Der Verkauf erfolgt je nach Marktsituation, so dass auch eine drei- bis sechsmonatige Lagerung möglich ist. Aufgrund der fallenden Marktpreise erfolgte im Untersuchungsjahr der Verkauf innerhalb von vier Wochen nach der Ernte.

In diesen Betrieben wurden Proben von den Getreidearten Roggen, Triticale, Dinkel und Weizen gezogen. Diese Proben wurden in Zusammenarbeit mit TP 1.2 teilweise auf Pilzbelastung und Mykotoxinbelastung untersucht. Das Vorerntemonitoring und die Witterung im Untersuchungsjahr ließen im Voraus ein geringes Risiko auf eine Fusariumbelastung und Mykotoxinbelastung erwarten.

In Betrieb A wurden zur Ernte 77 Proben gezogen und 11 Proben auf das Mykotoxin Deoxynivalenol (DON) untersucht. Die DON-Gehalte lagen bei allen Proben unter dem Grenzwert. Nach ca. vier Wochen wurden weitere 15 Proben aus dem Lager gezogen. In 5 Proben wurde DON unterhalb des Grenzwertes nachgewiesen. In 10 Proben wurde Ochratoxin A (OTA) nachgewiesen, immer unterhalb des Grenzwertes. Weitere 3 Monate später (Mitte November) wurden nochmals 15 Proben gezogen. Diese Proben wurden nur auf OTA untersucht. Es wurde in allen 15 Proben OTA nachgewiesen. Alle Werte lagen unter dem Grenzwert. Anfang April wurden letztmalig für diese Lagersaison Proben gezogen. Auch hier waren keine Grenzwertüberschreitungen feststellbar.

In Betrieb B wurden 57 Proben während der Getreideernte gezogen und davon 5 Proben auf DON untersucht. In 3 dieser Proben wurden geringe Mengen an DON nachgewiesen. Diese lagen alle unter dem Grenzwert von 1250 µg·kg⁻¹. In diesem Betrieb wurden nach vier Wochen dann die ersten (und auch letzten) Lagerproben gezogen. Der Betrieb hat innerhalb von sechs Wochen seine Ernte verkauft. In allen 5 Proben wurden DON und OTA in Konzentrationen unterhalb der Grenzwerte nachgewiesen.

Im Betrieb B konnten zusätzlich während des Mähdruschs flächendeckend Kornfeuchten kartiert werden, da der Mähdrescher über ein Ertragskartierungssystem verfügt, dessen Bestandteil auch die Kornfeuchtemessung ist. In Abbildung 1 sind beispielhaft drei Schläge dargestellt, die am 23., 24. und 29 Juli 2008 geerntet wurden. Gut zu erkennen ist die unterschiedliche Verteilung der Kornfeuchte über die drei verschiedenen Erntetage und auch die räumliche Verteilung innerhalb des Schlages. Bei den insgesamt niedrigen Kornfeuchten des Erntesommers 2008 waren günstige Bedingungen gegeben, um eine spätere Mykotoxinbelastung im Lager zu vermeiden.

Da das Vorerntemonitoring im Jahr 2009 erneut eine geringe Mykotoxinbelastung erwarten ließ, wurde in diesem Jahr auf die betrieblichen Verfahrensanalysen verzichtet.





II.1.3. Bewertung der Sensorsysteme innerhalb der Produktionskette Getreide

Die entwickelten Sensorsysteme der Teilprojekte haben in der Verfahrenskette Getreide unterschiedliche Einsatzpunkte zur Erkennung von Mykotoxinen und Abtrennung belasteter Partien. Das Sensorsystem aus Teilprojekt 1.1 "Sensorgestützte Detektion von Mykotoxinbildnern im Getreidebau" (TP 1.1) wird zur Mykotoxinerkennung während einer Überfahrt im grünen Getreide eingesetzt. Daraus ergeben sich einige Möglichkeiten, wie man auf die Ergebnisse der Detektion reagieren kann. Die Partientrennung erfolgt zu einem späteren Zeitpunkt. Der Einsatz der Sensoren aus dem Teilprojekt 1.2 "Indikatoren und Sensortechnik zur Erkennung von Mykotoxinbildnern in der Getreideaufbereitung" (TP 1.2) ist sowohl auf dem Mähdrescher als auch im Lager denkbar. Derzeit wird der Einsatz im Lager favorisiert. Das Teilprojekt 1.3 "Spezifische Verfahrensführung bei der Getreidetrocknung zur Inhibition von Mykotoxinbildnern" (TP 1.3) durch sensortechnische Erfassung von Produktinhomogenitäten entwickelt Sensoren und Techniken zur Optimierung der Trocknung. Hier sind derzeit die geringsten Auswirkungen auf eine Veränderung im Produktionsverfahren Getreide zu erwarten.

Aus den drei Teilprojekten ergeben sich unterschiedliche Varianten, zu welchem Zeitpunkt die Sensorsysteme in das Verfahren eingesetzt werden könnten. Ziel ist es, jeweils die belasteten Getreidepartien zu erkennen und von den unbelasteten zu trennen. Dazu wurden drei Varianten erarbeitet, die eine getrennte Ernte ermöglichen.

Variante 1:

Die Felderkennung befallener Teilflächen erfolgt im wachsenden Bestand während einer separaten Überfahrt mit dem Kamerasystem aus TP 1.1, vorzugsweise zur Düngung. Mit den gewonnenen Daten werden dabei Karten erstellt, die für eine getrennte Ernte der befallenen und nicht befallenen Bereiche genutzt werden. Die getrennte Ernte ist in zwei Untervarianten denkbar: (1a) Der Mähdrescher folgt dem Verlauf der Teilflächen auf der Karte und erntet erst die unbefallenen Bereiche und anschließend die befallenen Bereiche. (1b) Der Mähdrescher folgt dem üblichen Bearbeitungsmuster der Schläge und trennt den Gutstrom vor dem Bunker. Über eine Weiche werden die Partien den Segmenten eines geteilten Bunkers zugeführt. Gegenwärtig wird der Bunker durch eine starre Wand geteilt. Zukünftig könnten auch flexible Unterteilungen des Bunkers entwickelt werden.

Variante 2:

Die Erkennung und Abtrennung mykotoxinbelasteter Partien erfolgt während des Mähdruschs. Hierfür muss der Mähdrescher über ein Sensorsystem verfügen, mit dem eine kontinuierliche Bestimmung der Mykotoxingehalte im fließenden Gutstrom möglich ist. Belastete und unbelastete Partien werden wiederum über eine Weiche unterschiedlichen Bunkersegmenten zugeführt.

Variante 3:

Es erfolgt eine herkömmliche Ernte mit dem Mähdrescher. Die Erkennung und Abtrennung mykotoxinbelasteter Partien findet im Lager statt. Für die Erkennung können Sensoren zum Einsatz kommen, wie sie in TP 1.2 entwickelt werden. Die Trennung kann innerhalb des bewegten Gutstromes erfolgen, wobei die Geschwindigkeit des bewegten Gutstroms abhängig von der Verarbeitungszeit des Sensorssystems geregelt werden kann. Durch technische Einrichtungen kann der Gutstrom in seiner Masse reduziert werden. Die Reduzierung kann bis zur Sortierung des Einzelkornes erfolgen. Die Trennung in größeren Gutströmen kann durch mechanische Weichen und Schleusen erfolgen. Bei der Einzelkornsortierung erfolgt die Trennung mit Hilfe pneumatischer Einrichtungen. Die Leistung solcher Sortiermaschinen wird mit 2 bis 8 t·h⁻¹ angegeben (Gerät SORTEX Z der Firma Bühler). Die Erkennung von Toxinen der Feldpilze soll vor der Einlagerung erfolgen, während Toxine der Lagerpilze während der Auslagerung zu detektieren sind. Voraussetzungen für die Umsetzung dieser Variante sind die Entwicklung geeigneter Sensoren und die Erhöhung der Masseströme bei der Einzelkornsortierung.

Für alle Varianten werden die Verfahrenskosten, der Arbeitszeitbedarf, der Dieselverbrauch und die Investitionskosten ermittelt (Tab. 2). Durch die Erkennung und anschließende Abtrennung belasteter Partien erhöhen sich die Verfahrenskosten gegenüber der herkömmlichen Ernte in Abhängigkeit von der eingesetzten Variante um 11-21%, der Arbeitszeitbedarf um bis zu 39% und der Dieselverbrauch um bis zu 21%. Als günstigste Variante stellt sich unter den hier getroffenen Annahmen die Erkennung und Abtrennung belasteter Partien im Lager dar. Auch für die Arbeitsorganisation dürfte es vorteilhaft sein, Partien erst nach dem Transport zu trennen und nicht zuvor.

Da hinsichtlich der Verfahrensgestaltung und insbesondere zu den Investitionskosten für die Sensorsysteme und Maschinenanpassungen zur Partientrennung zahlreiche Annahmen zu treffen waren, können diese Werte gegenwärtig nur grobe Anhaltspunkte sein. Weder die technische Machbarkeit noch die erforderlichen Investitionen können zur Zeit abschließend abgeschätzt werden. Da der Investitionsbedarf die Verfahrenskosten entscheidend beeinflusst, sind auch diese Angaben mit entsprechend großen Unsicherheiten behaftet.

Verfahrenskosten	Einheit		Variante 1			Variante 2		Variante 3
		herkömm- lich	Felderkennung mit Kartierung	Felderkennung - Trennen im Mähdrescher		Erkennung beim Mäh- drusch		Trennung am Lagerort
			Variante 1a	Variar	nte 1b			
			herkömmlicher Mähdrescher	starrer Bun- ker	flexibler Bunker	starrer Bun- ker	flexibler Bunker	
Investitionskosten Summe Abschreibung pro Jahr Mähdrescherabschreibung	€ €a ⁻¹ €ha ⁻¹	410.000 37.550 66,22	435.000 40.050 72,97	437.000 40.250 73,51	522.500 47.075 74,32	437.000 40.250 73,51	522.500 47.075 74,32	435.000 40.050 72,97
variable Kosten	€ha ⁻¹	34,63	49,80	43,07	48,66	40,22	45,81	40,22
	€t ⁻¹	4,33	6,23	5,38	6,08	5,03	5,73	5,03
Lohnkosten	€ha ⁻¹	6,94	8,01	7,43	7,17	7,43	7,17	6,94
	€t ⁻¹	1,03	1,40	1,33	1,38	1,09	1,14	1,03
Verfahrenskosten	€ha ⁻¹	107,78	130,79	124,01	130,15	121,16	127,30	120,13
	%	100	121	115	121	112	118	111
Arbeitszeitbedarf (nur Drusch)	h⋅ha ⁻¹	0,54	0,75	0,71	0,74	0,58	0,61	0,54
	%	100	139	131	137	107	113	100
Dieselverbrauch (nur Feld)	l⋅ha⁻¹	24	29	28	26	27	25	24
	%	100	121	117	108	113	104	100

Tabelle 2: Variantenvergleich zur getrennten Ernte unter Einsatz eines Sensorsystems gleichen Investitionsbedarfes

II.1.4. Leitfaden für die Bewertung des Sensoreinsatzes

Für die Bewertung des Sensoreinsatzes in Produktionsketten pflanzlicher Lebensmittel wurde ein Leitfaden entwickelt (s.u.). Der Leitfaden wurde intensiv mit den Partnern der Teilprojekte zur Frischekette (TP 2.1, 2.2 und 2.3) diskutiert. Eine Anwendung auf die Frischekette war im Rahmen des Verbundprojektes nicht mehr möglich.

Leitfaden

Bewertung des Sensoreinsatzes in Produktionsketten pflanzlicher Lebensmittel

Für die Bewertung technischer Systeme sind grundsätzlich Zielsysteme zu entwickeln, die Bewertungskriterien und deren Beziehungen zueinander enthalten. Für die einzelnen Kriterien, die Ausdruck der Technikwirkungen sind, werden quantitative Kennzahlen ermittelt oder qualitative Einschätzungen vorgenommen. Beim Sensoreinsatz in Produktionsketten pflanzlicher Lebensmittel können direkte und indirekte Wirkungen unterschieden werden. Direkte Wirkungen werden unmittelbar dem Sensor zugeordnet, während indirekte Wirkungen auf sensorinduzierte Verfahrensänderungen zurückzuführen sind.

Die VDI-Richtlinie 3780 Technikbewertung nennt als Wertebereiche im technischen Handeln Funktionsfähigkeit, Wirtschaftlichkeit, Wohlstand, Sicherheit, Gesundheit, Umweltqualität, Persönlichkeitsentfaltung und Gesellschaftsqualität. Für die Bewertung von Sensoren sind vor allem die Bereiche Funktionsfähigkeit, Wirtschaftlichkeit, Sicherheit, Gesundheit und Umweltqualität relevant. Sie werden im Folgenden nach VDI-Richtlinie kurz eingeführt und dann bezüglich der Bewertung von Sensoren in Produktionsketten pflanzlicher Lebensmittel erläutert.

A Direkte Wirkungen

Funktionsfähigkeit

Die Funktionsfähigkeit eines technischen Systems besteht darin, unter bestimmten Bedingungen erstrebte Wirkungen herbeiführen zu können. Sie umfasst Unterkategorien wie Brauchbarkeit, Machbarkeit, Wirksamkeit, technische Perfektion (Einfachheit, Robustheit, Genauigkeit, Zuverlässigkeit, Lebensdauer usw.) und technische Effizienz.

Bei der Entwicklung von Sensoren steht die technische Funktionsfähigkeit meist im Vordergrund. Deren Bewertung ist vorrangig Aufgabe der Entwickler und/oder Anwender. Diese sollten hierfür geeignete Kriterien und begründete Toleranzbereiche festlegen.

Aufgaben für die Bewertung:

- Kriterien für die Funktionsfähigkeit auswählen,
- begründete Toleranzbereiche festlegen.

Wirtschaftlichkeit

Die unaufhebbare Knappheit von Ressourcen führt zum ökonomischen Rationalprinzip, das Verhältnis von Aufwand und Nutzen zu maximieren.

Aufwand: Beim Einsatz von Sensoren entstehen in jedem Fall Kosten für Anschaffung (Investition) und Betrieb (Vollkosten). Gleichzeitig kann der Sensoreinsatz zu veränderten Aufwendungen im Prozess führen, z.B. durch Einsparungen oder Mehrverbrauch an Energie, Betriebs- oder Hilfsstoffen. Diese gehen monetär in die Vollkostenrechnung ein, werden natural aber auch bei der Bewertung der Umweltwirkungen berücksichtigt.

Nutzen: Der direkte Nutzen kann im wesentlichen in einer Verlustsenkung oder/und einer Qualitätsverbesserung bestehen. Im Rahmen der ökonomischen Bewertung ist zu prüfen, inwieweit diese Arten des Nutzens monetarisierbar sind.

Aufgaben für die Bewertung:

- Investitionen ermitteln,
- Vollkosten berechnen,
- Minder- oder Mehraufwand für Energie, Betriebs- und Hilfsstoffe prüfen, quantifizieren, monetarisieren,
- Reduzierung von Verlusten prüfen, quantifizieren, monetarisieren,
- Qualitätsverbesserung prüfen, quantifizieren, monetarisieren.

Sicherheit

Sicherheit bedeutet Abwesenheit von Gefahren für Leib und Leben. Sicherheit kann quantifiziert werden als reziproker Wert des Risikos, wobei Risiko definiert ist durch das Produkt aus Schadensumfang (bzw. Gefahrenpotenzial) und Eintrittshäufigkeit (bzw. Eintrittswahrscheinlichkeit). Sowohl Schadensumfang als auch Eintreffenswahrscheinlichkeit sind jedoch im Einzelfall oft schwer zu bestimmen.

Sicherheit in Produktionsketten pflanzlicher Lebensmittel betrifft zum einen die Sicherheit für die Beteiligten im Produktionsprozess und zum zweiten die Sicherheit der Verbraucher. Beides kann durch Sensoren beeinflusst werden.

Aufgaben für die Bewertung:

- Einfluss des Sensoreinsatzes auf die Sicherheit im Produktionsprozess prüfen, zumindest qualitativ beschreiben, nach Möglichkeit quantifizieren,
- Einfluss des Sensoreinsatzes auf die Sicherheit der Verbraucher prüfen, zumindest qualitativ beschreiben, nach Möglichkeit quantifizieren.

Gesundheit

Gesundheit bedeutet hier den Zustand des psychischen und körperlichen Wohlbefindens des Menschen. Das individuelle und allgemeine Empfinden von Gesundheit ist relativ.

In Produktionsketten pflanzlicher Lebensmittel betrifft Gesundheit wiederum zum einen die Gesundheit der Beteiligten im Produktionsprozess und zum zweiten die Gesundheit der Verbraucher. Im Produktionsprozess können Sensoren die Arbeit vereinfachen und erleichtern, aber auch höhere Anforderungen an Aufmerksamkeit und Qualifikation stellen und somit zu höherer psychischer Beanspruchung führen. Sensorbedingte Qualitätsverbesserungen am Produkt können sich positiv auf die Gesundheit der Verbraucher auswirken.

Aufgaben für die Bewertung:

- Einfluss des Sensoreinsatzes auf die Gesundheit der Beteiligten im Produktionsprozess prüfen, zumindest qualitativ beschreiben, nach Möglichkeit quantifizieren,
- Einfluss des Sensoreinsatzes auf die Gesundheit der Verbraucher prüfen, zumindest qualitativ beschreiben, nach Möglichkeit quantifizieren.

Umweltqualität

Die üblichen Wirkungskategorien für Ökobilanzen sind Treibhauseffekt, Energiebedarf, Biodiversität, Ressourcenverbrauch (abiotisch, biotisch, Landnutzung), Humantoxizität, Ozonabbau, Versauerung, Eutrophierung, Lärm, Geruch. Allgemein dürften beim Sensoreinsatz vor allem die Kategorien Energiebedarf und Treibhauseffekt relevant sein. Im Einzelfall können auch andere Kategorien Bedeutung erlangen.

Der Energieaufwand kann (a) zunehmen, z.B. infolge Mehrbedarf für Betrieb des Sensors oder/und sensorbedingt veränderte Prozesssteuerung mit erhöhtem Energieaufwand, (b) abnehmen, z.B. durch sensorbedingte energieeffizientere Prozesssteuerung, (c) vom Sensor unbeeinflusst bleiben.

Die CO_2 -Emissionen sind im wesentlichen proportional zum Energieaufwand. Weitere Treibhauseffekte können entstehen, wenn sensorbedingt andere Treibhausgase wie CH_4 oder N₂O vermindert oder vermehrt emittiert werden.

Aufgaben für die Bewertung:

- Wirkungsabschätzungen für die genannten Kategorien,
- weitere Umweltwirkungen prüfen, z.B. mechanische Bodenbelastung.

B Indirekte Wirkungen

Innerhalb eines Produktionsverfahrens für pflanzliche Lebensmittel können Sensorsysteme unterschiedliche Stellungen innehaben. Grundsätzlich dienen sie zur Informationsgewinnung im Rahmen der Prozessanalyse und damit der Prozesssteuerung. In Verbindung mit den anderen Elementen eines Steuerkreises beeinflusst der Sensoreinsatz den weiteren Prozessverlauf und kann über die Einleitung von Veränderungen im Verfahren auch auf vorgelagerte Prozessabschnitte zurückwirken. Die Prozesssteuerung verläuft auf mehreren Ebenen mit unterschiedlicher Kopplungsintensität und Reaktionszeit.

Beispiele:

1.) Der Prozessverlauf wird durch unmittelbar gekoppelte Sensoren verfolgt. Die gemessenen Werte werden online mit Sollwerten verglichen. Bei Über- oder Unterschreitung von Toleranzgrenzen erfolgen sofortige Steuerreaktionen innerhalb des gleichen Prozessabschnittes. So werden z.B. bei der online-gesteuerten N-Düngung im Getreide die Aufwandmengen sofort angepasst. Gleichzeitig führt die online-gesteuerte Stickstoffdüngung anschließend zu einer gleichmäßigeren Bestandesentwicklung, kann damit die Kapazität der Mähdrescher erhöhen und die Verfahrenskosten bei der Getreideernte verringern. Selbst bei direkt mit dem Prozess gekoppelter Sensortechnik ergeben sich somit wesentliche ökonomische Effekte u.U. in anderen Prozessabschnitten. 2.) Die sensorgestützt gewonnenen Informationen führen zu Veränderungen in nachfolgenden und/oder vorgelagerten Prozessabschnitten. Zu diesen Veränderungen gehören die Anpassung der verfahrenstechnischen Kapazität und damit des Technikbesatzes sowie die Ergänzung oder der Ersatz bisher angewendeter Verfahren durch andere Verfahren. Darüber hinaus kann die Gewinnung bisher nicht verfügbarer Informationen die Entwicklung neuer Verfahren induzieren.

Die Entwicklung von Multisensoren für die Erkennung von Pilzen und ihren Toxinen führt zunächst zur Trennung eines bisher einheitlich behandelten Getreideaufkommens in unbelastete und belastete Partien. Diese werden im Folgenden unterschiedlichen Verfahren zur Weiterbehandlung zugeführt. In Prozessabschnitten nach dem Sensoreinsatz erhöht sich entsprechend die Anzahl der eingesetzten Verfahren. Deren Kapazität ist den neuen Gutströmen anzupassen.

Die bisher nicht mögliche Erkennung von Pilzen und Mykotoxinen wird zu einem erhöhten Anfall belasteter Partien führen und damit zu verstärkten Bemühungen, den Befall bereits in den vorgelagerten Prozessabschnitten zu senken. Dies betrifft den Anbau, die Ernte, Lagerung und Konservierung. Die Mähdruschkapazitäten sind an den Bedarf anzupassen und die Lagerungs- und Konservierungsverfahren so auszuwählen, zu kombinieren und in ihrer Kapazität zu bemessen, dass keine günstigen Lebensbedingungen für Lagerpilze entstehen. Es besteht somit eine Rückkopplung des Sensoreinsatzes auf die Gestaltung vorgelagerter Prozessabschnitte. Die Zusammenhänge sind sehr komplex. Der Sensoreinsatz schafft auch die Möglichkeit, diese besser zu erkennen.

Je weiter der Zusammenhang zwischen den sensorgestützt erfassten Parametern und den sie bestimmenden Faktoren, je zahlreicher diese Einflussfaktoren, je länger die Reaktionszeiten und je vielfältiger die Wirkungen des Sensoreinsatzes, desto komplexer ist die Bewertungsaufgabe. Das Ausmaß der indirekten Sensorwirkungen kann das der direkten Wirkungen weit überschreiten.

Aufgaben für die Bewertung:

Allgemeingültig kann hier formuliert werden, dass für die Bewertung stets das gesamte Verfahren zu betrachten ist. Sämtliche Verfahrensänderungen, die sensorbedingt im eigentlichen Prozessabschnitt des Sensoreinsatzes, in nachfolgenden Prozessabschnitten und auch in vorgelagerten Prozessabschnitten stattfinden, sind zu betrachten und nach dem bereits ausgeführten Vorgehen zu bearbeiten. Dementsprechend sind für die indirekten Sensorwirkungen Zielsysteme mit den entsprechenden Kriterien und deren Beziehungen aufzustellen, die Kennzahlen zu ermitteln bzw. qualitative Einschätzungen vorzunehmen.

II.1.5. Zusammenfassung

Der aktuelle Stand des Sensoreinsatzes in der Getreidekette wurde analysiert. Schwerpunkte des Sensoreinsatzes bilden der Anbau (Düngung, Pflanzenschutz) und der Mähdrusch. Betriebliche Verfahrensanalysen zur Getreideernte wurden durchgeführt. Die Ergebnisse gingen in weitere Kalkulationen ein. Unterschiedliche Varianten der Einordnung von Erkennung und Abtrennung belasteter Partien in die Getreidekette wurden entwickelt und hinsichtlich Verfahrenskosten, Arbeitszeitbedarf, Dieselverbrauch und Investitionskosten verglichen. Die Mehrkosten gegenüber der herkömmlichen Ernte betragen 11-21%. Wegen großer Unsicherheiten bezüglich der Ausgangsdaten, hier insbesondere der Investitionskosten für die Sensorsysteme und die Maschinenanpassungen für die Partientrennung, können diese Werte nur für eine erste grobe Orientierung dienen. Für die Bewertung von Sensorsystemen wurde ein Leitfaden entworfen.

Quellen

- Oebel, H. (2006): Teilschlagspezifische Unkrautbekämpfung durch raumbezogene Bildverarbeitung im Offline- (und Online-) Verfahren (TURBO), Dissertation 2006, Universität Hohenheim
- Risius, H.; Hahn, J.; Korte, H. (2008): Segregating Different Qualities of grain during Harvesting. AgEng2008 Agricultural & Biosystems Engineering for a Sustainable World; International Conference on Agricultural Engineering, Herssonissos, Crete, Greece, European Society of Agricultural Engineers.
- VDI (1991): Technikbewertung Begriffe und Grundlagen. Erläuterungen zur VDI-Richtlinie 3780. VDI-Report 15, Düsseldorf.

II.2. Voraussichtlicher Nutzen

Die Ergebnisse liefern methodische Ansätze für weitere Bewertungen von Sensoren in Produktionsketten pflanzlicher Lebensmittel und Orientierungen für die Einordnung von Sensoren zur Erkennung und Abtrennung mykotoxinbelasteter Partien in die Getreidekette.

Die Ergebnisse sind insbesondere nutzbar, derzeit laufende Entwicklungsarbeiten zur Partientrennung während des Mähdruschs bewertend zu begleiten und gleichzeitig Ansätze zur Partientrennung im Lager zu verfolgen.

II.3. Fortschritt bei anderen Stellen

Während der Projektlaufzeit wurden am Fachgebiet Agrartechnik der Humboldt-Universität zu Berlin umfangreiche Arbeiten zur selektiven Getreideernte durchgeführt. Mittels Sensor wird der Proteingehalt während des Mähdrusches kontinuierlich gemessen und der Gutstrom je nach Über- bzw. Unterschreiten eines Grenzwertes mit Hilfe einer Weiche auf zwei getrennte Bereiche des Bunkers aufgeteilt. Sofern Sensoren für eine kontinuierliche Bestimmung von Mykotoxingehalten im Mähdrescher entwickelt werden können, ist diese Form der selektiven Getreideernte auch für die Erkennung und Abtrennung belasteter Partien von Interesse. Daher wurde die selektive Getreideernte in die Verfahrensbewertung mit aufgenommen (Kap. 1.3).

Während der Projektlaufzeit wurden keine komplexen Arbeiten zur Bewertung des Sensoreinsatzes in der Produktionskette Getreide bekannt.

II.4. Geplante Veröffentlichungen

Eine weitere Veröffentlichung ist zum derzeitigen Stand nicht geplant.

Teilprojekt 2.1 "Prozessnahe Bewertung des Verderbnisrisikos empfindlicher Produkte mittels innovativer Sensortechnik"

Manuela Zude, Martin Geyer

Teil I Kurzdarstellung

I.1. Aufgabenstellung

Ziel des Vorhabens war es, eine Methode zu entwickeln, zur prozessnahen Qualitätsbestimmung und Bewertung des Verderbsrisikos durch mechanische Belastung bei gartenbaulichen Produkten. Gemeinsam mit einem KMU wurde ein zerstörungsfreier Demonstrator für die Produktanalyse schrittweise entwickelt und erprobt. Die Bewertung stützt sich auf Qualitätsbestimmungen am Anfang der Versorgungskette sowie auf Daten zur mechanischen Belastung und Produktschädigung. Auf dieser Datenbasis werden frühzeitig Entscheidungen zur optimalen Verwertung einer Produktpartie möglich.

Im Projekt wurde die Machbarkeit einer prozessnahen Analyse bei gartenbaulichen Produkten mittels praxistauglicher, optischer Methoden untersucht. Die Entwicklung, Zusammenführung und Erprobung von zwei Messprinzipien erfolgte unter Labor- und Praxisbedingungen. Die Optimierung der Hardware und mehrjährige Tests wurden durchgeführt, um die Anforderungen an Sensortechnik und Bewertungsalgorithmen zur Charakterisierung der Produktqualität und ihrer Veränderung durch mechanische Einflüsse in der Prozesskette in enger Kooperation mit TP 2.2 und 2.3 zu erfüllen. Sie sind grundlegend für die Weiterentwicklung von Richtlinien zur Zertifizierung der Qualitätsanalytik im Gartenbau. Eine kommerzielle Verwertung wird angestrebt. Die Ergebnisse werden in der Fachpresse und auf Tagungen publiziert.

I.2. und 3. Voraussetzungen, Planung und Ablauf des Vorhabens

Dem Verderb von empfindlichen Produkten wie Kartoffeln, Obst und Gemüse gehen in der Regel physiologische und/oder physikalische Veränderungen des Produktes voraus. Abhängig von den Prozessbedingungen nach der Ernte und den eingetragenen Prozessintensitäten treten stets Verluste an Qualität und Frische bei Obst und Gemüse ein. Häufigste Ursache für den Verderb gartenbaulicher Produkte sind vor allem mechanische Belastungen und folgende Sekundärinfektionen. Die quantitative Bestimmung der mechanischen Produkteigenschaften sowie der Beschädigung nach mechanischer Belastung sind Voraussetzung für die Qualitätsanalyse und einer Bewertung der Produktempfindlichkeit.

Der zu entwickelnde Demonstrator sollte spezifische Veränderungen der optischen Eigenschaften bedingt durch das Weichwerden des Fruchtgewebes während der Reife und nach mechanischer Beschädigung erfassen. Zur Charakterisierung der Einflussfaktoren auf die messbaren Signale sollten Veränderungen der stofflichen Zusammensetzung nach mechanischer Belastung zunächst spektroskopisch im sichtbaren und nahinfraroten Wellenlängenbereich bestimmt werden. Hierzu wurden Veränderungen der Inhaltsstoffe mittels eines hochauflösenden Blitzlampen-Spektralphotometers angesprochen, so dass die frequenzabhängigen Messdaten diagnostisch auswertbar waren. Die spektralen Veränderungen der Absorptionskoeffizienten im blaugrünen und roten Wellenlängenbereich konnten in Zusammenarbeit mit der Firma CP (KMU-Partner) in einem Laboraufbau erfasst werden. Speziell der Abbau von Chlorophyll und die oxidative Polymerisierung von Phenolen sind charakteristische Inhaltsstoffveränderungen bei mechanischer Schädigung der empfindlichen gartenbaulichen Produkte. In einer zweiten Entwicklungsstufe des Gerätes wurden Anpassungen implementiert, so dass Hintergrundsignale und variierende Lichtintensitäten der gepulsten Lichtquelle korrigiert werden konnten. Die Arbeiten verliefen wie im Projektantrag geplant, wobei die Ressourcen bedingt durch das notwendige zweite Spektrometermodul zur Lichtquellen-Korrektur nach Absprache mit dem Projektträger leicht erhöht wurden. Das Funktionsmuster in der vorliegenden überarbeiteten Entwicklungsstufe steht im Anschluss an das Projekt weiterhin für die Laboranalysen der Abteilung zur Verfügung.

Anhand der Messreihen, an Apfel, Kiwi, Weintrauben und Tomaten im Rahmen des vorliegenden Projektes, wurden die Parameter der in der nächsten Entwicklungsstufe angestrebten frequenzabhängigen und ortsaufgelösten Messung festgelegt. Das optische Sensorsystem sollte nun neben der stofflichen Zusammensetzung nach Produktschädigung auch zur Analyse der Produkttextur-Eigenschaften dienen. Der Sensoraufbau erfolgte entsprechend des Projektantrages. Zusätzlich wurden aber auch neuere Erkenntnisse genutzt, die speziell zur zerstörungsfreien Texturbestimmung im Rahmen eines DFG-Projektes der Arbeitsgruppe zur Verfügung standen [Highly Efficient Sensors for Perishable fruit products to Evaluate the Role and Impact of technologies on nutritional Damage and Elaborate optimising Strategies (HESPERIDES) DFG-Geschäftszeichen: GE866/5-2]. Hierzu musste der Prüfplatz an die selektierten Wellenlängenbereiche und Geometrien der Produkte angepasst werden. Die veränderten Absorptionseigenschaften, bedingt durch die Inhaltsstoffveränderungen nach mechanischer Belastung, wurden mit dem System an den blau-grünen, roten und nahinfraroten Bandpässen sowie mit Hilfe von spezifischen Veränderungen des Photonentransportes im Gewebe untersucht. Nach ersten Messreihen und Monte-Carlo-Simulationen zu den optischen Parametern erfolgte der Aufbau eines Demonstrators, der für Apfel und Kiwi optimiert vorlag.

Die Messdaten des Demonstrators wurden mit etablierten Laboranalysen validiert. Als Referenzen für die neue zerstörungsfreie Methode wurden im Labor Qualitätsanalysen an den frischen Produkten durchgeführt. Mikrobielle Untersuchungen erfolgten in den Teilprojekten 2.2 und 2.3. Die mechanischen Eigenschaften (Elastizitätsmodul, Fruchtfleischfestigkeit, akustische Resonanzschwingung) wurden an allen Produkten im Anschluss an die zerstörungsfreien Messungen bestimmt. Die Qualitätsanalysen beinhalteten je nach Fragestellung Inhaltsstoffanalysen zur Bestimmung der Pigmentgehalte (Phenole, Carotinode, Chlorophylle) und die refraktometrisch ermittelte lösliche Trockensubstanz.

Die Messreihen konnten an marktrelevanten Ernteprodukten (Apfel, Tomate, Kiwi und Banane), bei denen in der Praxis große Verluste und starke Veränderungen in den Textureigenschaften auftreten, entlang der Versorgungskette durchgeführt werden. Hierbei zeigte sich ein erhöhter Bedarf an neuen Auswerteverfahren, um die variierenden optischen Eigenschaften der Produkte zu analysieren. Es wurde eine Software entwickelt, die eine Auswertung der Bilddaten frequenzabhängig zulässt. Die Messreihen erfolgten im ersten Projektjahr in Vorversuchen an Tomate, Apfel und Kiwi aus dem Handel. Versuche zur mechanischen Belastung von Äpfeln zeigten ein hohes Potenzial der Wellenlängen abhängigen Rückstreumessung in der Detektion von Produktschädigungen (Baranyai & Zude 2008). Da das Interesse des Handels an Kiwi besonders hoch war, wurden im zweiten Projektjahr umfangreiche Messreihen an Kiwifrüchten durchgeführt, die jeweils von einem Vermarkter in den kommerziellen Vermarktungsklassen bereit gestellt wurden. Erste Daten wurden bereits publiziert, wobei vorrangig die Methodenentwicklung im Vordergrund stand (Baranyai & Zude 2009).

Im dritten Projektjahr erfolgten Versuchsreihen an Äpfeln unterschiedlicher Sorten entlang der Versorgungskette. Es wurden Daten in der Produktion während der Reifung am Baum bis in den Nacherntebereich erhoben, wobei als Varianten unterschiedliche Wasserversorgungen der Bäume in der Produktion und variierende Lagerbedingungen im Nacherntebereich eingestellt wurden. Die Methodik und die sensitiven Daten zum Vorernteeinfluss auf die Nacherntequalität wurden von anderen Arbeitsgruppen mit großem Interesse wahrgenommen, was zu Einladungen auf die ASABE Jahrestagung in den USA 2010 und praxisorientierten Workshops führte. Zur Weiterentwicklung des Sensorsystems erfolgten zusätzlich einzelne Versuche an Produkten aus dem Handel (Kartoffeln, Bananen, Tomaten, Nektarinen), wobei mechanische und thermische Belastungen bis zum Auftreten von Produktschäden untersucht wurden.

Zeitreihen wurden an Apfel über mehrere Monate und Banane über einen Zeitraum von jeweils 6 Tagen in den Jahren 2008 und 2009 aufgenommen. Die hierbei erhobenen Daten sind bereits für die gartenbauliche Forschung in Versuchsstationen und den Handel interessant. Die Apfeldaten aus dem Nacherntebereich sollen nach Projektende noch veröffentlicht werden. Die Bananenmessungen werden im Rahmen einer Doktorarbeit in Kooperation des ATB mit der Universität Putra Malaysia weitergeführt.

I.4. Wissenschaftlicher und technischer Stand

Technischer Stand:

Während der Erprobung von UV-Lichtquellen verschiedener Hersteller konnte die neuartige Anwendung der frequenzabhängigen Photometrie in diesem Wellenlängenbereich auch für weitere Anwendungen diskutiert werden. Im vorliegenden Projekt wurden die Ergebnisse vorrangig für die Anforderungen an die Lichtquellen zur bildgebenden Rückstreumessung verwendet. Die ebenfalls einsetzbare Fluoreszenzmessung bietet jedoch darüber hinaus die Möglichkeit native und während der Verarbeitung entstehende Moleküle zu detektieren. Zu-künftig soll der Aufbau für die online Bestimmung von Hydroxyzimtsäure-Derivaten (Wulf *et al.* 2008) und Hydroxymethylfurfural (Zhu *et al.* 2009) erprobt werden.

Das neuartige Sensorsystem zur bildgebenden, frequenzabhängigen Rückstreumessung wurde aufgebaut und im Labor im letzten Projektjahr entlang der Versorgungskette bei Apfel erprobt. Die Labor- und Praxisversuche zeigen hervorragende Möglichkeiten, Veränderungen der Inhaltsstoffe bedingt durch mechanische Schäden sowie der mechanischen Produkteigenschaften mit diesem System zu erfassen. Die Methode ist praxistauglich und kann sowohl in Sortieranlagen implementiert wie auch als portables Gerät aufgebaut werden.

Eine Optimierung des Sensorsystems durch Monte-Carlo Simulationen, wie sie im vorliegenden Projekt für Apfel und Kiwi durchgeführt wurde, scheint für eine kommerzielle Lösung notwendig. Die Software wurde in C++ und Matlab entwickelt und in den Messreihen getestet und überarbeitet. Das Programm liegt für den Laborbetrieb bzw. zum Implementieren in ein kommerzielles System vor.

Wissenschaftliche Erkenntnisse:

Darüber hinaus wurde als Ergebnis der umfangreichen Simulationen und Kalibrierungen gezeigt, dass erstmals sensitive optische Eigenschaften mit einem praxistauglichen System erfasst werden können. Bislang wurden die Absorptionskoeffizienten und die Streueigenschaften ohne Berücksichtigung der Streurichtung (Anisotropie-Faktor) in der Literatur beschrieben. Mit dem im Projekt erarbeiteten neuen Ansatz zur Datenauswertung können die Lichtlöschung sowie - bei geeignetem Probenmaterial - Absorption, Streuung und Anisotropie separat bestimmt werden. Die Arbeiten wurden in referierten Fachzeitschriften (Baranyai & Zude 2008a; Baranyai & Zude 2009) und praxisnahen Fachzeitschriften (Baranyai & Zude 2008b, c; Baranyai *et al.* 2008) publiziert bzw. auf Tagungen vorgestellt. Das neue Verfahren, bestehend aus der Hardware mit angepasster Lichtquelle sowie die hier entwickelte Auswertemethode, stellen originäres Wissen für die Arbeitsgruppen auf dem Gebiet der optischen Sensorik für den landwirtschaftlichen Bereich bereit.

- Baranyai, L.; Zude, M. (2008a): Analysis of laser light migration in apple tissue by Monte Carlo simulation. Progress in Agricultural Engineering Sciences 4 (1): 45-59
- Baranyai, L.; Zude, M. (2008b): Evaluation of photon migration and laser-induced backscattering in kiwifruit. Acta Hort. (ISHS) 802: 247-250
- Baranyai, L.; Zude, M. (2008c): Rapid quality assessment of fruits with machine vision system/ Schnelle Qualitätsbewertung von Früchten mit Hilfe der Bildverarbeitung. Agricultural Engineering/Landtechnik 63: 158-159
- Baranyai, L.; Geyer, M.; Zude, M. (2008): Analysis of photon propagation in kiwifruit by means of backscattering imaging and simulation. Bornimer Agrartechnische Berichte 62: 50-57, ISSN 0947-7314
- Baranyai, L.; Zude, M. (2009): Analysis of grades and bruising of kiwifruit using laser-induced backscattering imaging. Computers and Electronics in Agriculture 69: 33-39

Tagungsbeiträge:

- Baranyai, L. Regen, C.; Geyer, M.; Zude, M. (2009): Application of Monte Carlo simulation in estimation of anisotropy of fruit tissue. 5th CIGR Postharvest Symposium, Potsdam, Germany
- Baranyai, L.; Regen, C.; Zude, M. (2009): Monitoring optical properties of apple tissue during cool storage. Workshop on Image Analyses in Agriculture, Potsdam-Bornim
- Baranyai, L.; Regen, C.; Geyer, M.; Zude, M. (2009): Analysis of laser-induced diffuse reflectance in apple tissue during controlled atmosphere cool storage. Lippay-Ormos-Vas

Scientific Symposium will be at Corvinus University of Budapest, 28-30. October, Hungary

Baranyai, L.; Regen, C.; Linke, M.; Zude, M. (2010): Estimating optical properties of apples during controlled atmosphere cool storage. ASABE 2010 Annual International Meeting – Pittsburgh, Pennsylvania USA

Sonstige Literatur:

- Wulf, J.S.; Rühmann, S.; Regos, I.; Puhl, I.; Treutter, D.; Zude, M. (2008): Nondestructive application of laser-induced fluorescence spectroscopy for quantitative analyses of phenolic compounds in strawberry fruits (Fragaria x ananassa). Journal of Agricultural and Food Chemistry 56 (9): 2875–2882
- Zhu, D.Z.; Ji, B.P.; Eum, H.L.; Zude, M. (2009): Evaluation of the non-enzymatic browning in thermally processed apple juice by front-face fluorescence spectroscopy. Food Chemistry 113: 272–279

I.5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Die Methode der spektral-aufgelösten bildgebenden Rückstreumessung wurde von einer US-Amerikanischen Forschergruppe (USDA, Michigan) in die landwirtschaftliche Praxis eingeführt. Zum Arbeitsgruppenleiter, Renfu Lu, wurde der Kontakt intensiviert. Hierdurch konnten wir auf den wissenschaftlichen Stand des Wissens aufsetzen und unsere Methode der Datenauswertung weiterentwickeln. Es wurde eine Vortragseinladung durch Renfu Lu ausgesprochen zu einem speziellen Workshop zur bildgebenden diffusen Reflexionsmessung im Rahmen der ASABE Jahrestagung (USA, 2010). Herr Baranyai wird diesen Vortrag halten.

Der wissenschaftliche Mitarbeiter im Teilprojekt hat eine Position als Privatdozent (Associate Professor) an der Corvinius Universität in Budapest, Ungarn. Die Ungarische Arbeitsgruppe hat langjährige Erfahrungen in der Signalauswertung an landwirtschaftlichen Produkten. Das vorliegende Projekt konnte aufgrund dieser Expertise relativ schnell deutliche Fortschritte bei der Erfassung der optischen Parameter an gartenbaulichen Produkten verzeichnen.

Die Fruchtmessungen mit der Methode werden im Rahmen einer Doktorarbeit von Frau Norhashila Hashim in Kooperation des ATB mit der Universität Putra Malaysia in 2010 und 2011 weitergeführt.

Teil II Eingehende Darstellung

II.1. Erzielte Ergebnisse

II.1.1. Sensorentwicklung

II.1.1.1. Spektral aufgelöste Messung der diffusen Reflexion

Die Anforderungen an den spektraloptischen Sensor waren die messtechnische Erfassung verschiedener Spektralbereiche zwischen 200 und 750 nm hinsichtlich ihrer Aussagekraft bezüglich der Produktpigmentgehalte im sichtbaren Wellenlängenbereich sowie die mikrobiell bedingte Schädigung im UV-Wellenlängenbereich (Wellenlängenauflösung 2,5–3,3 nm) zu untersuchen. Hierzu mussten im ersten Projektabschnitt geeignete Lichtquellen sowie Detektoren für die mobile Messung an unterschiedlichen Produkten (30-70 mm Durchmesser) am ATB getestet werden, um die Anforderungen an das Entwicklungsmuster zu erarbeiten. Vom Projektpartner CP GbR, Falkensee, wurden zunächst Module zur Erprobung für die frequenzabhängige (cw) Lichtdetektion an biologischem Material bereitgestellt. In Vorversuchen an Äpfeln und Möhren wurde festgestellt, dass der zu Projektbeginn angenommene Wellenlängenbereich (200-750 nm) nicht ausreichend ist.

Das Auslesen der Photodiodenzeile (Wellenlängenbereich 200 bis 780 nm, Rayleigh-Auflösung 2,3 nm) und numerisches Verarbeiten der Daten erfolgt mit einem 20 MHz getakteten Mehrprozessor-System (Abbildung 1). Fremdlicht in unterschiedlichen Wellenlängenbereichen sowie eine Drift der Photodiodenzeile werden durch angepasste Datenvorverarbeitung automatisch korrigiert.



Abb. 1: Aufbau der ersten Entwicklungsstufe

Lichtquellen wurden im Labor auf ihre Eignung zur quantitativen Analyse an biologischem Material untersucht. Gerade im UV- und blau-grünen Wellenlängenbereich ist die Lichteinkopplung von hoher Bedeutung, da starke Gewebeabsorptionen auftreten. Eine flexible Anordnung mit unterschiedlichen Geometrien unter Nutzung einer Hochspannungs-UV-Lichtquelle wurde in Labortests erarbeitet und im Entwicklungsmuster für weitere Tests vom Projektpartner CP integriert. Die elektronische Ansteuerung der Lichtquellen konnte bereitgestellt und für die Messungen im Projekt miniaturisiert in das Sensorsystem integriert werden. Die Stabilität der getesteten kommerziell verfügbaren Lichtquellen ist für die Dauerstrichbzw. gepulste Messung mit dem Ziel einer quantitativen Analyse nicht ausreichend. Das im Projektrahmen entwickelte Funktionsmuster wurde daher um einen zweiten Messkanal mit eigenem Spektrometermodul zur relativen Messung erweitert (Abbildung 2). Die nach mehreren Tests beigestellte Hochspannungs-Strahlungsquelle wurde in ein Gehäuse eingebaut, mit einer Ansteuerelektronik versehen und mit dem PDA-Spektrometer synchronisiert. Der Betrieb mittels Akkumulatoren wurde geprüft, jedoch aufgrund der ausgewählten Hochspannungslichtquelle verworfen. Eine geeignete Hardware unter Berücksichtigung der extrem strahlungsempfindlichen PDA-Elektronik wurde entworfen und realisiert.

Für die folgenden Messungen am ATB zur Untersuchung geeigneter Intensitäten und Kalibrierungen wurde eine automatische Integrationszeitregelung sowie entsprechend der Vorgabe eine manuelle Einstellung der Blitzfrequenz geschaffen. Die manuelle Einstellung ist über die Gerätesoftware ermöglicht. Softwareseitig ist die Implementierung von multivariaten Modellen vorbereitet.

Für die Messung wurde ein integrierter Aufbau mit außen liegender Bedienung konstruiert. Die Messungen sind in entsprechend ausgestatteten Räumen unter Schutzvorkehrungen durchzuführen.



Abb. 2. Blockschaltbild der zweiten Entwicklungsstufe mit zwei Messkanälen

In Vorversuchen wurden Transmission-, Remissions- und diffuse Reflexionsspektren an Früchten aufgezeichnet. Im Modus der diffusen Reflexion sind Messungen auch im UV-Bereich mit gutem Signal/Rauschverhältnis möglich. Neben der UV-Absorption ist die Messung der blau-grün Fluoreszenz der Polyphenole sowie der roten Fluoreszenz des Chlorophyll a mit dem erarbeiteten Aufbau ermöglicht (Abb. 3).

Die Absorption und Fluoreszenz von Photonen im Gewebe ist bedingt durch die Pigmente, die im Projekt für die Bewertung der Produktschädigung herangezogen werden sollen. Die Wellenlänge des eingekoppelten Lichtes wird entsprechend der vorliegenden Absorber den Grad der Photonenlöschung im Gewebe beeinflussen. Dagegen hängt die Streuung der Photonen und somit das effektive Messsignal vom jeweiligen Brechungsindex der passierten Zellbestandteile ab. Nutzt man Wellenlängen an denen kaum oder keine Absorptionen auftreten, können mit Hilfe von Rückstreumessungen spezifisch Informationen zur Streuung aufgezeichnet werden. Kürzlich veröffentlichte Arbeiten (Qing *et al.* 2007) zeigen, dass Rückstreumessungen, nach Korrekturen zur Geometrie der Signalaufzeichnung, für die Analyse von Textureigenschaften genutzt werden können. Daher wurde in der zweiten Entwicklungsstufe eine optische Geometrie zur diffusen Reflexionsmessung realisiert.



Abb. 3: Fruchtspektrum im diffusen Reflexionsmodus und Vergleich mit einer Weißmessung

Die Selektion der Wellenlängen für die weiteren Messungen mit Ortsauflösung erfolgte mittels genetischer Algorithmen, wobei die Veränderungen der Chlorophyllabsorption sowie Veränderungen im "optischen Fenster" – wo keine Absorptionen auftreten – als robuste Stützstellen in der Kalibrierung selektiert wurden (Abbildung 4a).



Abb. 4a: Selektierte Bandpässe (um 670, 785 und 830 nm) für die frequenzabhängige ortsaufgelöste Messung



Abb. 4b: Bilder der Photonenausbreitung von Laserdioden an den selektierten Bandpässen für die ortsaufgelöste Messung

II.1.1.2. Ortsaufgelöste Messung der diffusen Reflexion an ausgewählten Wellenlängen

Die Absorption von Photonen im Gewebe ist bedingt durch Pigmente, Zucker, Wasser und andere Inhaltsstoffe. Die Wellenlänge des eingekoppelten Lichtes wird entsprechend der vorliegenden Absorber den Grad der Photonenlöschung im Gewebe beeinflussen. Kürzlich veröffentlichte Arbeiten zeigen, dass Rückstreumessungen im Wellenlängenbereich 670-1060 nm wie die nahinfrarot (NIR) Spektroskopie zur Analyse der löslichen Trockensubstanz genutzt werden können.

Dagegen hängt die Streuung der Photonen von der Zellgröße, dem Brechungsindex sowie den Zelleigenschaften ab. Die Nutzung von Lasern hat den Vorteil, dass monochromatisches Licht mit geringem Abstrahlwinkel gezielt in das Gewebe eingekoppelt werden kann und die räumliche Ausbreitung im Gewebe gut sichtbar ist. Nutzt man Wellenlängen an denen kaum oder keine Absorptionen auftreten, können mit Hilfe der Rückstreumessung spezifisch Informationen zur Streuung und somit von Textureigenschaften aufgezeichnet werden.

Die Messungen erfolgten in Vorversuchen mit unterschiedlichen Wellenlängen, die für die Messaufgabe der Pigment- und Texturveränderungen Informationen enthalten (Abbildungen 4a, b). Für die weiteren Versuche wurden Laser mit Emission bei 670 nm (Global Laser Ltd., UK) und 785 nm (Newport Corp., USA) ausgewählt. Im roten Wellenlängenbereich konnten somit Daten zur Absorption von Chlorophyll und bei 785 nm Daten zu den variierenden Streueigenschaften erhoben werden. Die Laserenergie betrug unter 50 mW, wodurch keine Beschädigung am Fruchtgewebe erfolgte. Die optische Geometrie wurde auf 0/15° festgelegt. Dieser gegenüber der standardisierten CIE 0/45° Geometrie verringerte Einstrahlwinkel ermöglichte die Platzierung der Lasermodule nahe an der Kamera. Es wurde eine 3CCD-Farbkamera (JVC Ltd., Japan) aufgrund ihrer Sensitivität im relevanten Wellenlängenbereich verwendet, mit der ein Bild (768x572 Pixel bei einer geometrischen Auflösung von 0,03 mm/Pixel) pro Frucht aufgezeichnet wurde.



Abb. 5: Experimenteller Aufbau der bildgebenden laser-induzierten Rückstreumessung



Abb. 6: Reflexion der Laserstrahlung an der Oberfläche und Photonenausbreitung im Gewebe

Das Bildverarbeitungssystem (Abbildung 5), bestehend aus einer monochromen Kamera (JAI A50IR CCIR, JAI, Denmark), Zoom-Linse (H6Z810, Pentax Corp., Germany) und Videokonverter (VRmagic AVC-1, Stemmer Imaging GmbH, Germany) ermöglichte Aufnahmen mit einer Auflösung von 720 x 576 Pixeln bei einer Größe von 0,1694 mm je Pixel. Das Bildverarbeitungssystem wurde mit einer 3CCD-Farbkamera (JVC KY-F50, JVC Ltd., Japan) und Bilddigitalisierkarte (Optimas, Bioscan Inc., USA) ergänzt, um die spektrale Sensibilität für Infrarotlicht zu erhöhen und die Verarbeitung an jedem Computer mit USB-Schnittstelle (Universal Serial Bus) durchführen zu können. Die Untersuchungen fanden in einer Dunkelkammer statt, um das Hintergrundrauschen zu verringern und den dynamischen Bereich der Bilder zu erhöhen. Der Einfallswinkel des Laserstrahls betrug 7°. Das Bildverarbeitungssystem wurde mit der Software LabView 8.6 PDS (National Instruments, USA) kontrolliert, welche mit einer dynamischen Bücherei mit Bildverarbeitungsfunktionen ergänzt wurde. Die beobachtete räumliche Verteilung der Intensität (Abbildung 6) wurde genutzt, um die optischen Eigenschaften des Fruchtgewebes zu schätzen. Von den Rückstreuprofilen wurde der radiale Durchschnitt im Verhältnis zum Einstrahlpunkt berechnet (Abbildung 7). Die Form der gemessenen Profile wurde anschließend analysiert, um die optischen Eigenschaften wie etwa Absorptionskoeffizient (μ_a), Streuung (μ_s) und Anisotrophiefaktor (g) zu berechnen.





II.1.1.3. Optimierung des Demonstrators mit Monte-Carlo-Simulationen und empirischen Daten mechanisch belasteter Äpfel

II.1.1.3.1. Ziele

Nach Entwicklung der Kernbestandteile des Sensorsystems musste eine Optimierung erfolgen, um die Praxistauglichkeit des Systems hinsichtlich Rechenleistung vorzubereiten. Das Hauptziel erster Versuchsreihen war die Untersuchung, ob sich eine Monte Carlo Simulation zur Abschätzung der optischen Parameter μ_a , μ_s und g im Apfelgewebe durchführen lässt und für die Optimierung eignet. Der simulierte Photonenfluss an der Oberfläche der Äpfel wurde verglichen mit experimentellen Daten, die mit der bildgebenden Rückstreumessung aufgezeichnet wurden.

II.1.1.3.2. Material und Versuchsablauf

Es wurden Apfelfrüchte (*Malus x domestica*) der Sorten 'Idared' (n = 78) und 'Golden Delicious' (n = 72) aus dem Handel verwendet. Die Proben wurden zufällig in zwei Gruppen eingeteilt. Eine Gruppe wurde jeweils mechanisch belastet, in dem sie 50 cm auf eine harte Oberfläche fiel. Diese Oberfläche war mit einem Kraftsensor ausgestattet, so dass die maximale Kraft aufgezeichnet werden konnte. Die maximale Kraft in der vorgegebenen Fallstufe lag im Bereich von 160-286 N bei einem mittleren Wert von 245,9 N und 26,5 N Standard-abweichung.

Die optischen Messungen mit dem Demonstrator wurden vor der mechanischen Belastung, nach der Belastung sowie nach einem Tag Lagerung bei 15,6-19,4°C durchgeführt. Der Ort auf der Frucht an dem die mechanische Belastung eingewirkt hatte, wurde auf der Oberfläche der Früchte markiert, so dass die weitere Datenaufzeichnung an der gleichen Stelle erfolgen konnte.

II.1.1.3.3. Optimierung der Pulslänge

Das Gesetz von Planck (Gleichung 1) definiert den Zusammenhang zwischen Photonenenergie (E) und der Frequenz (v), die ausgedrückt werden kann durch die Geschwindigkeit des Lichtes in Vakuum (c_0), die Wellenlänge des Lichtes (λ) und den Brechungsindex des Mediums (n).

$$E = hv = h\frac{c_0}{n\lambda}$$
(GI. 1)

as Einsetzen der Parameter der vorhandenen Lasermodule bedingt die Anzahl der Photonen innerhalb 1 s Pulsweite: 1,42 x 10¹⁶ bei 3 mW und 670 nm sowie 2,94x10¹⁷ bei 45 mW und 785 nm. Die Verwendung einer ähnlichen Anzahl von Photonen ist typisch für frühere Simulationen, um eine hohe Messsicherheit zu erreichen (Zolek *et al.* 2006). Integrationszeiten von 0,5 bis 8,3 ms (elektronische Shutter-Geschwindigkeit) der Kamera könnten jedoch ebenfalls ausreichen. Da der Zeitrahmen von Simulationen die Anzahl der Photonen beeinflusst, wurden zeitaufgelöste Modelle für ein infinitesimales, homogenes Medium verwendet, um den kürzesten anwendbaren Zeitrahmen zu ermitteln.

II.1.1.3.4. Simulation der Reaktion an den Oberflächen

Der Photonenfluss gemessen an der Oberfläche eines semi-infiniten, homogenen Gewebes wurde errechnet, um Rückstreuprofile zu simulieren. Der Brechungsindex wurde mit n=1,4 angenommen. Die eingesetzten Absorptions- (μ_a =0,63 cm⁻¹) und Streukoeffizienten (μ_s =30 cm⁻¹) für Äpfel bei 670 nm wurden auf Grund früherer unabhängiger Studien eingestellt (Qin & Lu 2006; Torricelli 2009). Basierend auf der Diffusionstheorie ist die Lichteindringtiefe (δ) definiert als der zurück gelegte Weg, wobei als Grenzwert die Lichtintensität auf 1/e reduziert wird. Die Eindringtiefe wird als der reziproke Wert der effektiven Löschung berechnet (Gleichung 2) mit Absorptionskoeffizient (μ_a), Streuung (μ_s) und Anisotrophiefaktor (g).

$$\delta = \frac{1}{\sqrt{3\mu_{a}(\mu_{a} + \mu_{s}(1 - g))}}$$
(GI. 2)

er Streukoeffizient wurde bestimmt als der höchste Wert, da typischerweise $\mu_s >> \mu_a$ auftritt. In der vorliegenden Untersuchung wurde entgegen früherer Arbeiten auch der Anisotropiefaktor betrachtet. Hierfür wurde die Heyney-Greenstein Phasenfunktion (Jacques 1998) verwendet. Die Gleichung ist auch für die Streufunktion einsetzbar, die experimentell in biologischem Material beobachtet werden kann. Die Startposition der Photonen wurde zufällig im Bereich des planen runden Strahls gewählt. Der Weg von jedem Photon wurde unterteilt in lineare

Segmente. Die Länge dieser Weglänge (s) wurde mit der Annahme einer gleichmäßigen Verteilung und einer Zufallszahl $\xi \in 0-1$ bestimmt. Die Photonen wurden auf ihrem Weg verfolgt bis sie das Gewebe an der Oberfläche verlassen oder ihre Intensität soweit abnahm, dass sie den Schwellenwert von 10^{-20} unterschritten. Die Wichtung der Eingangsphotonen war 1, war jedoch folgend reduziert bedingt durch das Transportalbedo (a) bei jedem Berechnungszyklus. Die errechneten Photonenflussprofile wurden normalisiert, so dass sie mit dem Kamerabereich verglichen werden konnten. Hierbei war der maximale Wert 255.

$$s = \frac{-\ln(\xi)}{\mu_a + \mu_s} \tag{GI. 3}$$

$$a = \frac{\mu_s}{\mu_a + \mu_s} \tag{Gl. 4}$$

II.1.1.3.5. Ergebnisse und Diskussion

II.1.1.3.5.1. Optimierung der Pulslänge

Die messbare Intensität von kugelförmigen Körpern um den Einstrahlungspunkt wurde bei 10 ps, 50 ps, 100 ps, 500 ps und 1 ns nach der Einkopplung ermittelt. Der experimentelle Aufbau war bedingt durch den Empfindlichkeitsbereich der Kamera, die Auflösung der Bilder und die Parameter der Lasermodule. Zwei Kriterien wurden etabliert, um die kürzeste mögliche Pulsbreite für die Simulation zu finden. Es wurde erwartet, dass die Photonen einen Weg nahmen der signifikant weiter als der Strahlungsdurchmesser war und die messbare Intensität unter den Rauschschwellenwert der Kamera fallen würden. Abbildung 8 zeigt die ermittelten Profile für isotropisches Gewebe von Golden Delicious Äpfeln. Diese wurden vertikal mit gepunkteten Linien aufgeführt und bezeichnen den Strahlungsdurchmesser während die horizontal gepunktete Linie den Rauschschwellenwert der Kamera anzeigte. Der Zeitrahmen von 1 ns erfüllte beide Kriterien, daher wurde dieser Wert selektiert, um Simulationen der messbaren Oberflächenreaktionen zu ermitteln. Die Selektion wurde bestätigt durch zusätzliche Profile, die für anisotropes Gewebe vorwärts streuen (q>0) sowie rückwärts gerichteter Streuung (g<0). Diese Optimierung verringerte bereits die benötigte Anzahl der Photonen signifikant auf 1,42 x 10⁷ und 2,49 x 10⁸ für Einstrahlungsintensitäten mit 3 mW (670 nm) und 45 mW (785 nm). Der Effekt durch die Anzahl der Photonen wird in Abbildung 9 gezeigt. Mehr Photonen die rückwärts gestreut werden, erhöhen den Photonenfluss und verursachen eine vertikale Verschiebung der Profile (ohne Normalisierung). Zusätzlich wird das statistische Rauschen dichter am Einstrahlungspunkt verzeichnet, wenn wenige Photonen eingesetzt werden. Der selektierte Bereich von 10⁷ bis 10⁸ führte zu einem stabilen Signal innerhalb eines Radius' von 1,5 cm. Hier konnte der Gradient an der Oberfläche der Äpfel aufgezeichnet werden. Die Verwendung von 1 ns Pulsweite ist ein großer Vorteil, da hier keine Notwendigkeit für zusätzliche Programmoptimierung und Abschätzungen notwendig waren (Zolek et al. 2006). Die Berechnungszeit war auf einem üblichen Computer akzeptabel, mit etwa 20 Min für 10⁷ Photonen auf einem HP xw6000 Arbeitsstation mit Xeon[™] 2,66 GHs Prozessor.



Abb. 8: Simulierte Verteilung von Photonen nach Einkopplung in Apfelgewebe (μ_a =0,63 cm⁻¹, μ_s =30 cm⁻¹ und g=0) bei einer Pulslänge von Δ =10 ps, +=50 ps, X=100 ps, \diamond =500 ps und ∇ =1 ns



Abb. 9: Vertikale Verschiebung von computersimulierten Profilen unter Betrachtung einer ansteigenden Anzahl von Photonen Δ =10⁴, +=10⁵, X=10⁶, \Diamond =10⁷ und ∇ =10⁸

II.1.1.3.5.2. Sensitivität der Modelle und Einfluss der optischen Parameter

Rückstreuprofile als ebene Reaktion auf die Grenzschichten eines semi-infiniten, homogenen Mediums wurden betrachtet. Eine Fläche von 3 cm Durchmesser mit 0,03 mm/Pixel Auflösung wurde eingestellt. Die optischen Parameter des Gewebes wurden innerhalb eines ±20% Bereiches verändert. Ein Blockdesign wurde verwendet zur Betrachtung der Koeffizienten in einem Bereich von $\mu_a=0.504-0.756$ cm⁻¹ und $\mu_s=24.0-36.0$ cm⁻¹. Die optischen Parameter (Brechungsindex, Absorptions- und Streukoeffizienten) des Gewebes wurden geschätzt, unter Berücksichtigung von früher publizierten unabhängigen Arbeiten. Während in früheren Arbeiten der reduzierte Streukoeffizient verwendet wurde, erfolgte im vorliegenden Ansatz eine Berücksichtigung des Anisotropiefaktors als unabhängiger Faktor im Modell. Der Anisotropiefaktor wurde um den häufig gemessenen Wert von 0,8 eingestellt (g=0,64-0,96). Die statistische Analyse erfolgte unter Betrachtung des Zusammenhangs zwischen den optischen Parametern und der Profile mit multifaktorieller Anova (Tabelle 1). Die statistische Analyse zeigt die dominierende Bedeutung der Streurichtung, repräsentiert durch den Anisotropiefaktor (p<0,001). Dieser Parameter zeigte den größten Einfluss sowohl auf die gemessene sichtbare Intensität wie auch auf das Profil (Gradient) der gemessenen Rückstreuung. Die messbare Intensität und der Gradient der Rückstreuprofile waren um 25,83 bzw. 26,69 mal mehr beeinflusst vom Anisotropiefaktor im Vergleich zum Streukoeffizienten.

An dieser Stelle kann man bereits den Schluss ziehen, dass die etablierte Verwendung des reduzierten Streukoeffizienten bei der Analyse von Fruchtgewebe-Eigenschaften weniger hilfreich ist als die separierte Betrachtung des Streukoeffizienten und des Anisotropiefaktors.

Der Einfluss der Streu- und Absorptionskoeffizienten war ebenfalls signifikant (p<0,05) aber in geringerem Maße als die Wirkung der Anisotropie. Geringe F-Werte wurden für das Verhältnis zwischen diesen Attributen gefunden. Bedingt durch die ungewöhnlich starke Einflussnahme des Anisotropiefaktors wurde im Weiteren der individuelle Einfluss dieses optischen Parameters auf das messbare Signal untersucht. Seine Werte variierten in einem weiten Bereich von -0,9 bis 0,9. Die maximalen Intensitätswerte stiegen mit abnehmendem Wert der Anisotropie. Als Folge rotierten die Profile, wobei der Gradient der Intensität, gemessen an der Oberfläche, dichter an den Einkopplungspunkt rückte (Abbildung 10). Die durch Simulation und statistische Analyse der experimentellen Daten herausgearbeitete Rotation könnte zukünftig helfen, die bildgebende Rückstreumessung um den optischen Parameter der Anisotropie zu erweitern.

	Flux			Gradient			
Faktor	MS	F	Pr (F>)	MS	F	Pr(>)	
g	4,096x10 ¹¹	123,19	<2,2x10 ⁻¹⁶	1,237x10 ¹²	372,10	<2,2x10 ⁻¹⁶	
$ \begin{array}{l} \mu_{s} \\ \mu_{a} \\ \mu_{s} \times g \\ \mu_{a} \times g \\ \mu_{a} \times \mu_{s} \\ \mu_{a} \times \mu_{s} \times g \\ Residuals \end{array} $	1,584x10 ¹⁰ 1,533x10 ¹⁰ 1,973x10 ⁸ 2,815x10 ⁸ 5,147x10 ⁶ 1,865x10 ⁷ 3,325x10 ⁹	4,77 4,61 0,06 0,08 0,00 0,01	0,029 0,032 0,807 0,771 0,969 0,940	4,635x10 ¹⁰ 1,481x10 ¹⁰ 2,429x10 ⁹ 3,165x10 ⁹ 5,907x10 ⁷ 1,023x10 ⁷ 3,325x10 ⁹	13,94 4,45 0,73 0,95 0,02 0,00	<1,9x10 ⁻⁴ 0,035 0,393 0,329 0,894 0,956	

Tab. 1: Ergebnisse des multifaktoriellen Anova-Tests



Abb. 10: Rotation von simulierten Rückstreu-Profilen bei Apfel bei variierendem Anisotropiefaktor (g) unter Annahme von μ_a =0.63 cm⁻¹ und μ_s =30 cm⁻¹

1.1.4. Analyse von Äpfeln nach mechanischer Belastung

Die für die Optimierung genutzte Versuchsreihe (siehe 1.1.3) wurde ebenfalls hinsichtlich der zerstörungsfreien Bestimmung der mechanischen Belastung ausgewertet. Es wurde erwartet, dass die Verteilung des eingekoppelten Lichtes im Gewebe sich nach mechanischer Belastung und Auftreten von Druckstellen verändern würde. Die Größe der Fläche auf der eine Rückstreuung gemessen wurde, konnte durch Abstand zwischen den dem Einkopplungspunkt des Laserstrahls und des Wendepunktes des linearen Intensitätsgradienten beschrieben werden. Die Abnahme des Gradienten nach logarithmischer Transformation wurde eingesetzt, um zu testen, ob sich die Anisotropie ebenfalls veränderte. Unter Berücksichtigung der statistischen Analyse der experimentellen Daten mit Hilfe von multifaktoriellem Anova-Test waren die Profile, gemessen bei 670 nm, sensitiv gegenüber mechanischer Beschädigung und führten zu erhöhten F-Werten (Tabelle 2).

	Größe der Fläche streuung an der	e mit messbarer Rück- Apfeloberfläche	Gradient		
	Idared Golden Delicious		Idared	Golden Delicious	
670 nm	1.0635	4.7742**	2.7913*	2.1293	
785 nm	0.4799	2.1313	0.4720	0.2483	

Tab. 2: Ergebnisse des multifaktoriellen Anova-Tests bei mechanischer Belastung von Äpfeln

* p < 0,1; ** p < 0,005

Geringfügig unterschiedliches Verhalten wurde bei Proben der Sorten Idared und Golden Delicious gefunden. Signifikante Unterschiede (p<0,05) wurden in der Größe der gemessenen Flächen der Rückstreuung lediglich bei Golden Delicious bei einer Wellenlänge von 670 nm gefunden. Die Empfindlichkeit der Rückstreumessung bei 670 nm gegenüber dem Auftreten von Druckstellen war etwa 2 mal höher bei 670 nm im Vergleich zu 785 nm für beide Apfelsorten. Geringere F-Werte, jedoch immer noch signifikante Unterschiede (p<0,1), wurden für den Gradienten bei 670 nm bei Idared-Äpfeln gefunden. Die Profile zeigten eine etwa 5 mal erhöhte Empfindlichkeit im Vergleich zu bei 785 nm Aufgezeichneten. Es kann angenommen werden, dass der Einfluss einer Chlorophyllabnahme nach dem Eintreten einer Wundreaktion eine Abnahme des Absorptionskoeffizienten bei 670 nm und 785 nm könnten somit auf Einflüsse der mechanischen Belastung auf den Absorptionskoeffizienten sowie auf Textureigenschaften zurückgeführt werden.

Zusätzlich kann das unterschiedliche Verhalten der Äpfel mittels der maximalen Kraftdaten während der Belastung weiter analysiert werden. Äpfel der Sorte Golden Delicious wurden mit einer höheren mechanischen Belastung als Idared behandelt, wobei ein zweiseitiger T-Test (T=2,8) und Kolmogorov-Smirnov-Test (D=0,3816) einen signifikanten Unterschied bei p<0,01 feststellte.

II.1.1.5. Schlussfolgerungen zu den Versuchsreihen der ersten zwei Jahre an Apfel

Die dargestellte Kombination von Monte-Carlo-Simulation und wellenlängenabhängiger, ortsaufgelöster Rückstreumessung ist für Praxisanwendungen vielversprechend, da die ermittelten Unterschiede in den Profilen sowohl einer verbesserten Charakterisierung der optischen Eigenschaften dienen als auch die Bewertung dieser Veränderungen hinsichtlich des beschädigten Fruchtgewebes ermöglichen. Die Anwendung des entwickelten bildgebenden, Wellenlängen abhängigen Systems wurde mittels der Simulation optimiert. Speziell die Optimierung der Pulslänge führte zu einem Schwellenwert von 1 ns. Die Anwendung dieser Zeitdauer führte zu einem stabilen Signal innerhalb des Empfindlichkeitsbereiches der Kamera und verringerte die minimal notwendige Anzahl benötigter Photonen und damit die erforderliche Rechnerleistung. Somit können schnellere Simulationen und Analysen durchgeführt werden. Die Analysezeit ist im optimierten Demonstrator bereits im vorliegenden Stadium praxistauglich für den Einsatz in Sortieranlagen.

Untersuchungen zur Empfindlichkeit der Monte-Carlo-Modelle führten zu dem Ergebnis, dass der Anisotropiefaktor einen essentiellen Einfluss auf das Simulationsergebnis hat (p<0,001). Die statistische Analyse mit Anova-Test bestätigte den signifikanten Einfluss des
Anisotropiefaktors sowohl auf den Photonentransport als auch auf die Gradienten der gemessenen Profile. Eine Rotation der Profile bedingt durch Veränderungen des Anisotropiefaktors ist vielversprechend, um diesen Parameter in Praxismessungen zu schätzen. Der Gradient des Rückstreuprofils war 26,69 mal mehr durch den Anisotropiefaktor beeinflusst, im Vergleich zum Streukoeffizienten.

Die Analyse von mechanischer Beschädigung wurde bei Äpfeln mit Hilfe des entwickelten Systems untersucht. Hierbei wurden signifikante Veränderungen gefunden (p<0,05). Besonders bei Äpfeln der Sorte Golden Delicious war eine Klassifizierung möglich. Hier war neben den Veränderungen der Textureigenschaften, und damit Anisotropie und Streuung, ebenfalls eine Veränderung der Absorptionseigenschaften durch die Abnahme des Chlorophyllgehaltes in der vorliegenden Wundreaktion die Ursache.

II.1.1.6. Bestimmung der mechanischen Eigenschaften von Kiwifrüchten

II.1.1.6.1. Hintergrund

Kiwifrüchte (Actinidiaceae) sind in Ostasien heimisch. Während der Reifeentwicklung von Kiwifrüchten verändern sich Fruchtfleischfestigkeitswerte, die Fruchtdichte, die Trockensubstanz, die lösliche Trockensubstanz (SSC, soluble solids content), Helligkeit der Oberfläche und die Farbe des Fruchtfleisches. Die Trockensubstanz sowie SSC wurden bereits erfolgreich mit Hilfe der zerstörungsfreien VIS-NIR Spektroskopie im Wellenlängenbereich von 300-1100 nm bestimmt (McGlone & Kawano 1998; Schaare & Fraser 2000; Clark et al. 2004; McGlone et al. 2007). Die Messung der Fruchtdichte in unreifen Kiwis wurde untersucht, wobei Korrelationen zwischen der Trockensubstanz und SSC festgestellt wurden (Jordan et al. 2000; McGlone et al. 2002). Die Abnahme der Fruchtfleischfestigkeit wurde überprüft, wobei im Bereich von 65 kPa Druckaufwendung Deformationen zwischen 0,1 und 1 mm auftraten, während die Fruchtfleischfestigkeit in einem gut vermarktbaren Bereich lag (McGlone & Jordan 2000). Ebenfalls wurden die Lagereigenschaften variiert, wobei O2 und CO2-Konzentrationen verändert wurden, hierbei war die Fruchtfleischfestigkeit in ihrer Entwicklung sehr unterschiedlich in Abhängigkeit der Lagerdauer und der Atmosphäre im Lager (Irving 1992). Das äußere Erscheinungsbild der Früchte war ebenfalls verändert, hinsichtlich der Oberflächenbeschaffenheit und Fleischfarbe, diese wurden gemessen als Helligkeit (L*), als Rot-Grün-Achse (a*) und als Gelb-Blau-Achse (b*) im Koordinatensystem des CIE L*a*b* Farbraumes (Vilas-Boas et al. 2007; Mao et al. 2007). Besonders die rot-grün-Achse zeigte sich abhängig vom grün erscheinenden Chlorophyll.

Die Bildanalyse von Kiwifruchtscheiben kann verwendet werden, um sichtbare Veränderungen am Fruchtfleisch zu detektieren (Roudot 1989). Dagegen ließ die Methode des MRI angewendet an intakten Früchten keine Quantifizierung des Wassergehaltes zu (Burdon & Clark 2001). Jüngere Untersuchungen mit Niedrig-Energie-Lasern, auch bezeichnet als Biospeckle, bei 632 nm (Helium-Neon-Laser) konnten zur Analyse von Früchten nach mechanischer Belastung eingesetzt werden (Frederico & Kaufmann 2006; Passoni *et al.* 2005; Pajuelo *et al.* 2003). Die Laser Doppler Technik wurde erfolgreich zur Detektion der Fruchttextur eingesetzt (Muramatsu *et al.* 1999).

Veränderungen des Rückstreusignals traten häufig korreliert mit Veränderungen der Fruchttextur auf, wie unter Anwendung verschiedener Bildverarbeitungssysteme gezeigt werden konnte. Mit Hilfe dieser Technik konnten Reifestadium sowie SSC und Fruchtfleischfestigkeit bei Apfel klassifiziert werden (Cho & Han 1999; Lu 2004; Peng & Lu 2007; Qing *et al.* 2007a, 2008).

Die Selektion der verwendeten Wellenlänge ist hierbei essentiell, da die stofflichen Eigenschaften an den unterschiedlichen Absorptionsbanden angesprochen werden (Qing et al. 2007b). Multispektrale Methoden wurden bereits für die Analyse der Fruchtfleischfestigkeit und des SSC in Äpfeln entwickelt (Lu 2004; Peng & Lu 2007; Qing et al. 2007a). Mit Hilfe bildgebender Hyperspektraltechnik kann sowohl die Ortsauflösung wie auch die spektrale Auflösung erfolgen, womit ein deutlicher Vorteil für die Optimierung der Wellenlänge sowie Datenanalyseentwicklung besteht (Noh & Lu 2007; Peng & Lu 2008). In kommerziellen Anwendungen wie Sortieranlagen und Desktopmodulen für die Bewertung sind Geräte auf Basis der sichtbaren und NIR-Spektroskopie sowie Farbkameras verfügbar (MAF Industries Inc., USA; GREEF, Niederlande) ebenfalls sind Sortieranlagen auf der Basis der laserinduzierten Rückstreuung verfügbar (BEST, Belgien). Wobei letztere zum Stand der Technik nicht für die Qualitätssortierung von kompakten, relativ großen Körpern wie Früchten eingesetzt werden, sondern zum Aussortieren von Fremdkörpern (Metallteile, Federn, etc.) dienen. Neben den Sortieranlagen mit hoher Durchsatzrate wurden tragbare Systeme entwickelt, um die Fruchtqualität und Reife flexibel bereits in der Produktion zu ermitteln (CP, Deutschland; Unitec S.p.A., Italien). Hierbei wird die Vis/NIR Spektroskopie genutzt.

Unterschiedliche Analysetechniken können eingesetzt werden, um die Photonausbreitung durch ein Medium, z.B. Früchte, zu berechnen. Stochastische Modelle wenden die Monte Carlo Methode an, um individuelle Photonen in chemischen Lösungen oder in komplexen Materialien wie Früchten oder auch in menschlichem Gewebe zu verfolgen (Wang et al. 1997; Zolek et al. 2006; Fernandez 2007; Qin & Lu 2007; Scot et al. 2007; Guo et al. 2008). Der Einfluss interner Strukturen in der Probe kann durch 3D-Modelle untersucht werden (Binzoni et al. 2008). Die strukturelle Anisotropie, bedingt durch variierende Brechungsindizes der Mikrostrukturen im biologischen Material, und ihr Einfluss auf die effektiv gemessene Intensität wurden ebenfalls untersucht. Signifikante elliptische Veränderungen des Rückstreusignals wurden als Ergebnis paralleler zylindrischer Fibrillen im biologischen Gewebe gefunden (Kienle et al. 2003, 2004; Sviridov et al. 2005). Verfügbare isotropische Modelle oder Phantome können für solche Fälle nicht angewendet werden. Ein Wichtungskoeffizient der Diffusion kann den richtungsabhängigen Einfluss beschreiben (Heino et al. 2003) oder ein Biasfaktor könnte ein Random Walk Model generell anwendbar machen (Hebden et al. 2004). Das Ziel der vorliegenden Arbeit war der Vergleich von bildgebender Rückstreumessung mit stochastischen Simulationen, um eine Wechselwirkung zwischen experimentellen Daten, dem effektiven Messsignal und den optischen Parametern des Fruchtgewebes zu analysieren. Der Vergleich könnte eine Methode ermöglichen oder zumindest den Einfluss der optischen Eigenschaften der Kiwifrucht charakterisieren. Somit kann die Entwicklung zerstörungsfreier Bewertungsmethoden vorangetrieben werden.

II.1.1.6.2. Probenmaterial:

Kiwifrüchte (Actinidia deliciosa 'Hayward') wurden analysiert. Die Proben wurden von Personal aus der kommerziellen manuellen Sortierung auf die Festigkeitsklassen "weich", "Premium" und "hart" sortiert. Die Evaluierung der Messungenauigkeit bei der Klassierung auf die Fruchtfleischfestigkeit war das Ziel des Versuches, wobei zunächst eine übliche Analyse der Rückstreubilder durchgeführt wurde. Folgend sollten die optischen Parameter charakterisiert werden, die das messbare Rückstreubild unter Berücksichtigung des Fruchtmaterials beeinflussten. Eine Systemoptimierung erfolgte entsprechend der Vorgehensweise bei den oben gezeigten Apfelversuchen.

II.1.1.6.3. Bildverarbeitung und gegebene Klassierung der Früchte entsprechend der Vermarktungsklassen

Als erster Schritt der herkömmlichen Bildanalyse wurden die Farbwerte (R, G, B) in Lumineszenzwerte (L) umgerechnet (Gleichung 5).

$$L = 0.30R + 0.59G + 0.11B \tag{GI. 5}$$

Dynamische Clusteranalyse wurde eingesetzt, um die Segmentierung der Rückstreusignale und ROI (*region of interest*) durchzuführen. Die Koordinaten der Einstrahlstelle des Laserstrahls wurden anhand der Lumineszenzwerte ermittelt und der gewichtete Mittelpunkt der ROI bestimmt. Die Lumineszenzwerte wurden dann relativ zum Mittelpunkt abgetragen (Abbildung 11). Drei Verteilungskurven wurden aus den Bildern extrahiert: Mittlere Lumineszenz, maximale Lumineszenz und Varianz bezogen auf den radialen Abstand. Spezifische Kurvenparameter (n=21) wie Lage des Wendepunktes sowie die Tangente vor und nach dieser Position wurden aus den Werten der ersten Ableitung bestimmt. Diese Vorgehensweise war zeitsparend gegenüber teilweise verwendeten nicht-linearen Fittingmethoden. Die Bestimmung der 21 Parameter benötigte 70 ms, d.h. etwa 14 Bildanalysen pro Sekunde, für ein Bild mit einem PC (AMD64 Athlon X2, 2.19 GHz).



Abb. 11: Effektive radiale Intensitätsprofile (oben) und deren logarithmische Darstellung (unten), gemessen an reifen Kiwifrüchten bei 785 nm

Die Fruchtfleischfestigkeit der Kiwifrüchte wurde nach der zerstörungsfreien Bildanalyse zusätzlich zu der Klassierung durch das Sensorische Panel auch instrumentell mit der hierfür üblichen zerstörenden Analyse des Bruchverhaltens des Gewebes durchgeführt. Diese Messungen erfolgten mit einer Werkstoffprüfmaschine (Zwicki, Zwick Materialprüfung, Deutschland), wobei ein zylindrischer Messkopf mit Ø4 mm und eine Vorschubgeschwindigkeit von 200 mm/min verwendet wurden. Die maximale Kraft wurde am ersten Bruch innerhalb einer Eindringtiefe von 15 mm bestimmt. Auf der Basis dieser instrumentellen Analyse wurden die Schwellenwerte in der Klassifizierung durch das (subjektive) Sensorische Panel mit Hilfe des Bayes-Kriteriums optimiert. Die Varianz in der Klassierung nahm durch diesen Optimierungsschritt ab (Tabelle 3). Die Anwendung der Schwellenwerte auf eine unabhängige Probe wies auf eine objektivierte Klassierung der Fruchtfleischfestigkeit hin.

Eine multivariate lineare Regression (PLS) wurde mit den Festigkeitsdaten und dem jeweiligen Vektor der Lumineszenzkurve durchgeführt. Das Ergebnis der Kalibrierung wurde als 22ster Parameter verwendet.

	Tab.	3:	Fruchtf	leischfes	stigkeit	[N/cm ²]	von	Kiwifrüchten	der	Premiumkl	asse
--	------	----	---------	-----------	----------	----------------------	-----	--------------	-----	-----------	------

	Minimum	Mittelwert	Maximum	Varianz
Original (Sensorisches Panel)	1,492	2,757	7,174	2,079
Optimiert (Bayes)	1,565	2,248	3,122	0,1708

II.1.1.6.4. Klassierung der Fruchtfleischfestigkeiten mittels der wellenlängenabhängigen, ortsaufgelösten Rückstreumessung

Die Lumineszenzwerte der laser-induzierten Rückstreumessung bei 785 nm wurden für die Diskriminanzanalyse der Kiwifrüchte verwendet. Die Intensität der rückgestreuten monochromatischen Strahlung ist vorrangig durch die Streueigenschaften des Gewebes beeinflusst, während Absorptionen in diesem Wellenlängenbereich nicht zu erwarten sind. Darüber hinaus zeigte das verwendete CCD Sensorarray eine hohe Empfindlichkeit in diesem Bereich. Die Klassifizierung erfolgte zunächst linear, wobei aufgrund der relativ geringen Probengröße (n=98) eine Kreuzvalidierung (leave-one-out) durchgeführt wurde. Die aus den Rückstreubildern ermittelten Parameter führten zu 73,47% korrekt klassierter Früchte. Unter Einbeziehung der PLS-Ergebnisse wurde eine verringerte Ungenauigkeit bei 83,68% korrekt klassierter Früchte festgestellt.

Tab. 4: Ergebnisse der Klassierung mit zerstörungsfreier Bildverarbeitung und herkömmlicher Methode

Bildverarbeitung	Qual Weich	itätsniveaus in der Vermar Premium	ktung Hart
Weich	9	2	0
Premium	2	28	7
Hart	2	3	45
Gesamt	13	33	52

II.1.1.6.5. Monte-Carlo-Simulation

$$R_{s} = \left[\frac{\sin(\theta_{t} - \theta_{i})}{\sin(\theta + \theta_{t})}\right]^{2} \quad R_{p} = \left[\frac{\tan(\theta_{t} - \theta_{i})}{\tan(\theta_{t} + \theta_{i})}\right]^{2}$$
(GI. 6)

$$\xi = \int_0^r p(r) dr = \int_0^r \frac{2\pi r}{\pi b^2} dr = \frac{r^2}{b^{2'}} r = b\sqrt{\xi}$$
(GI. 7)

Wenn Photonen die Grenzschicht zwischen den Schichten mit unterschiedlichen optischen Eigenschaften passieren, ist der Anteil an Transmission und Reflexion nach der Fresnell-Gleichung (Gleichung 6) definiert. Während die Brechung durch das Snell's Gesetz bestimmt ist. Zusätzlich ist eine Richtungskorrektur bezüglich der gemessenen Photonen notwendig, da der CCD Sensor über den Proben mit einem limitierten Blickwinkel platziert war. Der Brechungsindex wurde mit n=1,4 angenommen. Dies ist ein häufig verwendeter Wert für Simulationen der Lichtausbreitung in Fruchtgewebe. Qin & Lu (2007) wendeten im Gegensatz dazu einen Wert von 1,35 für Golden Delicious Äpfel an. Der hier angenommene Brechungsindex von Kiwifrüchten bedingte einen kritischen Winkel bei 45,58°. Der Reflexionskoeffizient im Bereich von 0 bis 45,58° wird üblicherweise geschätzt, wobei s-polarisiert (senkrecht zur Brechung) und p-polarisiert (parallel zur Brechung) kombiniert werden (Tickner & Roach 2007). Das Laserlicht ist richtungspolarisiert und wurde in der Simulation laminar ausbreitend zur Brechung angenommen. Die Startposition (r) der Photonen wurde berechnet unter Berücksichtigung der Wahrscheinlichkeitsfunktion (Gleichung 7) für den gegebenen Strahlungsradius (b). Da das Integral der Funktion gleich 1,0 ist, für den Bereich von [0;b] war die gewählte Position proportional zur Quadratwurzel einer gleichmäßig verteilten Zufallszahl $\xi \in [0;1]$ (Jacques 1998). Dieser Ansatz simulierte einen flachen kreisförmigen Strahl und führte zu unterschiedlichen Startpositionen (m_0) um den Einstrahlpunkt herum.

Der Eingangswichtungsfaktor in der stochastischen Simulation, wenn die Photonen in das Gewebe eingekoppelt wurden, wurde $w_0=1,0$ gesetzt und nahm bedingt durch die Albedostrahlung innerhalb der einzelnen Kurvenabschnitte ab (Gleichung 8).

$$w_{n+1} = w_n \frac{\mu_s}{\mu_a + \mu_s} \tag{GI. 8}$$

$$m_{n+1} = m_n + s_n \times d_n \tag{GI. 9}$$

Der Photonentransport wurde verfolgt bis der Wichtungsfaktor unter einen Schwellenwert von 10⁻²⁰ abfiel (Zolek *et al.* 2006). Die Photonen wurden gestartet mit dem Richtungsvektor von d₀=[$\Box \xi_x \in (-1; 1), \xi_y \in (-1; 1), \xi_z \in (0; 1)$] mit dem Ziel, sie zu einer Bewegung im Gewebe zu zwingen. Schrittweise nahm der Wichtungsfaktor ab und die Photonen bewegten sich entsprechend des Richtungsvektors vorwärts (Gleichung 9).

Die Photonenbewegung wurde durch die Rotation durch d_n durch die polare und azimute winkelabhängige Streuung generiert. Die Anwendung dieser Doppelrotation von d (x, y, z) ist in dem Gleichungssystem 10 wiedergegeben.

$$x' = x\cos\theta + \frac{\sin\theta}{\sqrt{1 - z^2}} (xz\cos\varphi - y\sin\varphi)$$

$$y' = y\cos\theta + \frac{\sin\theta}{\sqrt{1 - z^2}} (yz\cos\varphi + x\sin\varphi)$$

$$z' = z\cos\theta - \sqrt{1 - z^2}\sin\theta\cos\varphi$$

(GI. 10)

Diese Gleichungen sind nicht gültig für Richtungen, die nahezu parallel oder antiparallel zur z-Achse ($z \cong \pm 1,0$) liegen. Vereinfachte Berechnungen wurden für diesen Fall eingesetzt (Gleichung 11).

$$x' = \pm \sin\theta \cos\varphi, \ y' = \pm \sin\theta \sin\varphi, \ z' = \pm \cos\theta$$
 (GI. 11)

Der Einfluss der Anisotropie (g) wurde wiederum unter Berücksichtigung der Heyney-Greenstein Phasen Funktion untersucht (Gleichung 12), im Gegensatz zu häufig verwendeten Ansätzen auf der Basis des reduzierten Streukoeffizienten.

$$p(\cos\theta) = \frac{1}{2} \frac{1 - g^2}{(1 + g^2 - 2g\cos\theta)^{3/2}}$$
(GI. 12)

Das Gewebe von Kiwifrüchten wurde als homogenes Medium ohne richtungsabhängige Mikrostrukturen für das Volumen der Lichteinkopplung und des Transportes angenommen. In diesem Fall beschreibt die obige Phasenfunktion generell die Streuung im Fruchtfleisch. Zwei unterschiedliche Arten von Simulationen wurden durchgeführt, das zeitaufgelöste Modell für unendliche homogene Medien, ohne Grenzschichten, wurde eingesetzt, um den Zeitrahmen der Simulationen zu optimieren und die minimale notwendige Anzahl an Photonen zu bestimmen. Die Anzahl der Photonen ist ein Schlüsselparameter der Simulation. Die Anzahl kann auf der Basis des Planck's Gesetz, unter Berücksichtigung der Eigenschaften des Lasermoduls, geschätzt werden. Ein Laserpuls mit der Dauer von einer Sekunde, bei 785 nm Wellenlänge und 45 mW Leistung, in das Gewebe mit n=1,4 beinhaltet 2,49 x 10¹⁷ Photonen. Hierdurch sind sehr hohe CPU (Central Processing Unit) notwendig.

Mit einem zweiten Modell wurden Informationen zu den Photonen erhoben, die diffus an der Oberfläche reflektiert werden (rückgestreut-*backscattered*). Während der Datenverarbeitung von beiden Modellen wurden alle Datensätze zurück skaliert auf den Empfindlichkeitsbereich der Kamera. Die Simulation basierte auf einem ANSI C Code (Wang *et al.* 1997; Jacques 1998). Bedingt durch Änderungen bei der Datenverarbeitung im Vergleich zu früheren Arbeiten, wurde eine Validierung auf der Basis der Diffusionstheorie (Qin & Lu 2006) durchgeführt.

II.1.1.6.6. Ergebnisse und Diskussionen

II.1.1.6.6.1. Skalierung auf die Kameraparameter

Obwohl die Daten auf den Sensitivitätsbereich der Kamera zurückskaliert wurden, sollten die Rückstreuprofile mit den theoretisch bestimmten Kurven übereinstimmen. Die erwarteten Mittelwerte von $\mu_a = 0.9$ cm⁻¹, $\mu_s = 40$ cm⁻¹ und g = 0.8 wurden für diesen Zweck verwendet.

Die errechneten logarithmischen Werte der (MC) Profile stimmten mit dem Modell auf der Basis der Diffusionstheorie mit $r^2 = 0,996$ und einem Fehlerquadrat von 8,28 x 10^{-2} cm⁻² überein. Hierfür wurde die Statistiksoftware R (Version 2.8.1, R Foundation for Statistical Computing, Österreich) verwendet. Da sich sowohl die theoretischen wie auch die modellierten Profile innerhalb der gleichen Skala bewegten, war eine Normalisierung für diesen Vergleich nicht notwendig. Die Ergebnisse der Validierung lassen darauf schließen, dass die Monte-Carlo-Methode hilfreich ist, um verlässliche Profile der Rückstreuung zu untersuchen und einzelne Parameter für die Kiwifrüchte zu extrahieren.

II.1.1.6.6.2. Zeitaufgelöste Simulation

Der Photonentransport für kugelförmige Körper um einen Einkopplungspunkt in einem infiniten, homogenen Medium wurde bei vier Pulsweiten untersucht (10 ps, 50 ps, 100 ps, 500 ps, 1 ns). Ein sehr kurzer Puls (40,16 ps) enthielt 10⁷ Photonen. Der Brechungsindex von n = 1,4 wurde wiederum für Kiwifrüchte angenommen. Die Werte der Absorptions- und reduzierten Streukoeffizienten der Kiwifrüchte wurden in früheren Versuchen gemessen (Zude 2006) mit $\mu_a = 0.9 \text{ cm}^{-1}$ und $\mu'_s = 4.0 \text{ cm}^{-1}$. Unter Beachtung des Verhältnisses von $\mu_s > \mu'_s$ wurde der Streukoeffizient mit $\mu_s = 40 \text{ cm}^{-1}$ geschätzt. Dies ist in Übereinstimmung mit beobachteten Werten, bei denen ein Anisotropiefaktor von g = 0,9 festgestellt wurde. Die Unsicherheit dieser optischen Eigenschaften von Kiwifrüchten finden sich in der Literatur wieder, wo sehr unterschiedliche Werte für Streukoeffizienten unter der Annahme g ≈ 0,7 bzw. g ≈ 0,8 mit μ'_s = 10-15 cm⁻¹ (Torricelli 2009) oder $\mu'_s = 7-8 \text{ cm}^{-1}$ (Qing & Lu 2008) bestimmt wurden.

Der Einstrahlungsdurchmesser wurde mit einem relativ geringen Wert von 0,1 mm (3,65 pixel) eingestellt, um einen möglichst großen Bereich des Photonenweges verfolgen zu können. Der sinnvolle Zeitpunkt für weitere Simulationen wurde durch zwei Kriterien bestimmt. Zum Einen sollten die zentralen Photonen signifikant weiter als der Strahlungsradius (0,5 mm) transportiert werden. Darüber hinaus sollte die geschätzte Intensität unter das Rauschniveau von 3 x 8 bit der CCD Kamera fallen, so dass der *steady state* simuliert werden konnte. Wenn maximale Intensitäten am Einkopplungspunkt beobachtet wurden, entsprach das zweite Kriterium dem Grenzwert von 2⁰. Abbildung 12 zeigt Schätzungen für isotropes Gewebe (g = 0) an den ausgewählten Pulsweiten. Die eingekoppelten Photonen wurden bereits nach 50 ps außerhalb des Strahlungsradius' ermittelt, während die geschätzten Intensitäten über dem Grenzwert lagen.

Der Zeitpunkt von 1 ns erfüllte beide Kriterien. Als ein Ergebnis der zeitaufgelösten Simulationen wurden die weiteren Berechnungen bei einem Laserpuls von 1ns mit 2,49 x 10⁸ Photonen durchgeführt. In den folgenden Berechnungen sparte diese Vorgehensweise Berechnungszeit und CPU Einsatz im Vergleich zu einer schnellen Schätzung, die durch die elektronische Shutter-Geschwindigkeit der Kamera (im Bereich von 0,5-8,3 ms) erfolgt war. Um die Berechnungszeit von 10⁷ Photonen zu ermitteln, wurde mit unterschiedlicher Hardware getestet. Ein Desktopcomputer mit AMD Athlon [™] X2 dual core 2.11 GHz Prozessor brauchte etwa 26 min, während ein Personal Computer mit Intel Xeon[™] 2.66 GHz Prozessor etwa nach 20 min die Berechnungen abgeschlossen hatte.



Abb. 12: Simulierte Intensitäten für ein infinites, homogenes Medium bei Pulsweiten von: 10 ps (\circ), 50 ps (Δ), 100 ps (+), 500 ps (×) and 1 ns (\diamond) nach Bestrahlung mit 10⁷ Photonen (μ_a =0.9 cm⁻¹, μ_s =40 cm⁻¹, *g*=0)

II.1.1.6.6.3. Rückstreu-Simulationen: Empfindlichkeit des Modells

Die gemessene Intensität an der Oberfläche von Kiwifrüchten wurde als planare Antwort auf der Grenzschicht eines homogenen Mediums berechnet. Die Profile wurden für eine Fläche mit 1,5 cm Radius mit 0,03 mm/bit Auflösung (ähnlich der Parameter des Kamerasystems) berechnet. Die optischen Eigenschaften des Gewebes wurden in einem Bereich $\pm 20\%$ relativ zu den erwarteten Mittelwerten untersucht. Die Absorptions- und Streukoeffizienten wurden in den Bereich $\mu_a = 0,72$ -1,08 und $\mu_s = 32$ -48 eingesetzt. Der Anisotropiefaktor wurde bei g = 0,8 \pm 20% der Werte eingestellt. Eine Analyse des Einflusses auf die Intensitätsprofile und optischen Parameter wurde mit multifaktorieller ANOVA durchgeführt, wobei die höchsten F-Werte für den Anisotropiefaktor im Vergleich zu den Streukoeffizienten gefolgt von den Absorptionskoeffizienten ermittelt wurden (Tabelle 5).

Die individuelle Einflussnahme der Faktoren g, μ_s und μ_a auf den simulierten Photonentransport und den messbaren Gradienten war signifikant (p<0,001). Der statistische Einfluss auf die simulierten Photonenflüsse bedeutet, dass die messbare Intensität an einem bestimmten Punkt vorrangig durch den Anisotropiefaktor bestimmt wird.

Factor	Effect on flux				Effect on gradient		
	MS	F	P(>F)*	MS	F	P(>F)*	
g µ _a µ _s x g µ _a x g	29,30 0,95 0,41 0,11 0,35 0,004	561,4012 18,1881 7,9100 2,1532 6,6665 0,0736	<2,2 x 10 ⁻¹⁶ 2,015 x 10 ⁻⁵ 0,0049 0,1423 0,0098 0,7862	75,19 2,01 1,26 0,39 0,88 0,01	1440,6889 38,4427 24,1479 7,4898 16,8985 0,2530	$<2,2 \times 10^{-16}$ 5,803 x 10 ⁻¹⁰ 9,026 x 10 ⁻⁷ 0,0062 3,947 x 10 ⁻⁵ 0,6149	
µ _a x µ _s x g	<0,001	0,0116	0,9142	0,003	0,0548	0,8149	

Tab. 5: Ergebnisse der multifaktoriellen Anova-Tests

* Significance level

Die gesamte messbare Intensität wurde ausgedrückt als über die Oberfläche messbare Anzahl der effektiven Photonen. Diese nehmen ab mit abnehmenden Streukoeffizienten und ansteigender Absorption (Tabelle 6). Die durchschnittliche Weglänge der Photonen innerhalb der Früchte zeigte geringfügig unterschiedliche Tendenzen. Die simulierten Photonen hatten eine maximale Weglänge bei der Kombination von minimalen Streu- sowie minimalen Absorptionsereignissen (Tabelle 7).

Tab. 6: Einfluss von Streu- und Absorptionskoeffizienten auf die gesamte messbare Intensität.

	µ₅(cm⁻¹)	μ _s (cm ⁻¹)		
µa(cm⁻¹)	32	40	48	
0,72	91,57	92,44	93,08	
0,90	90,58	91,57	92,30	
1,08	89,72	90,77	91,57	

Tab. 7: Einfluss von Streu- und Absorptionskoeffizienten auf die maximale Weglänge der Photonen

	µ _s (cm⁻¹)	μ _s (cm ⁻¹)	
µa(cm ⁻¹)	32	40	48
0,72	5,08	4,58	4,21
0,90	4,51	4,06	3,74
1,08	4,07	3,69	3,39

II.1.1.6.6.4. Rückstreu-Simulationen: Anisotropie bei Kiwifrüchten

Die effektive Intensität an der Oberfläche von homogenen Medien wurde für unterschiedliche Werte der Anisotropie im Bereich 0-0,99 berechnet. Die in früheren Arbeiten gemessenen Werte von $\mu_a=0.9$ cm⁻¹ und $\mu_s=40$ cm⁻¹ wurden eingesetzt bei einem Laserimpuls von 1 ns (2,49 x 10⁸ Photonen) und einem Grenzwert von 10⁻²⁰. Bei den simulierten Profilen stiegen die Intensitäten bei abnehmenden Werten der Anisotropie. Zusätzlich konnte man eine Rotation der logarithmisch aufgezeichneten Profile beobachten (Abbildung 13).



Abb. 13: Rotation der simulierten Rückstreu-Profile bei variierendem Anisotropiefaktor (g=0-0.9)

Lineare Kurvenabschnitte zwischen 0,3 und 1,0 cm wurden aus den logarithmischen Kurven selektiert und zur Parametrisierung verwendet. Das letzte Segment, wobei die Intensitäten unter das Rauschniveau der Kamera fielen, wurde verworfen. Sowohl die Simulationen wie auch die experimentellen Daten zeigten ein statistisch erhöhtes Rauschen in diesem Kurvenabschnitt (Abbildung 11). Der Anstieg bewegte sich im Bereich 0 und -1. Drei mathematische Funktionen wurden evaluiert, um den Zusammenhang zwischen Anstieg und Anisotropie zu beschreiben (Abbildung 14). Alle Funktionen zeigten hohe Bestimmtheitsmaße $(r^2>0.984)$ (Tabelle 8). Letztendlich wurde eine trigonometrische Funktion ausgewählt, bedingt durch minimal auftretende Autokorrelation, die durch den Durbin-Watson Test bestimmt wurde (Tabelle 9). Abbildung 15 zeigt die geschätzten Werte des Anisotropiefaktors für Kiwifrüchte in drei unterschiedlichen kommerziellen Reifestufen (unreif, premium und weich). Da die Verteilung von Premium und weichen Früchten nicht normal verteilt war, wurde ein zweiseitiger Kolmogorov-Smirnov-Test (Conover 1999) zum Vergleich eingesetzt (Tabelle 10). Sowohl die Boxplotdarstellung wie auch die statistischen Tests zeigten signifikante Unterschiede zwischen den Premium und weichen Früchten. Trotzdem wurden lediglich 75% der Kiwifrüchte korrekt in diese Klassen klassifiziert. Die Klasse harter Früchte zeigte Überschneidungen mit den beiden anderen Gruppen und eine Klassifizierung war nicht möglich.

Tab. 8: Bestimmtheitsmaß	und Durben-Watson-Wei	rt für drei Funktionen	zur Beschreibung der Profile
abi el Beedinnalentententale			Ear Beeerneibang acr 1 reine

	Funktion ^a	r²	Durbin-Watson
Polynomial	y=a+b·x+c·x ²	0,9845	0,4975
Exponential	y=a+b·x·e ^(x/c)	0,9944	0,5259
Trigonometric	y=a+b·tan(xπ/c)	0,9996	2,1255

^a a, b und c sind Koeffizienten, während y den Anstieg und x den Anisotrophiefaktor darstellen

Tab. 9: Statistik zu den Parametern der trigonometrischen Funktion

Coefficient	Estimate	Standard error	<i>t</i> -value	P(> <i>t</i>)*	
a b	-5,90503 1,86061 2,57021	0,01949 0,04076 0.01611	-303,01 45,64 160,12	<2 x 10 ¹⁶ 6,83 x 10 ¹⁴ -2 x 10 ¹⁶	
b c	1,86061 2,57921	0,04076 0,01611	45,64 160,12		6,83 x 10 ¹⁴ <2 x 10 ¹⁶

* Signifikanzniveau

Tab. 10: Ergebnis der Klassierung von Kiwifrüchten

	Hard	Soft	
Premium Soft	0,25 0,40	0,55**	

** p<0,01.

Die Analyse eines Bildes dauerte etwa 60-70 ms auf einem PC mit AMD Athlon[™] X2dual core 2.11 GHz Prozessor. Diese Verarbeitungsgeschwindigkeit würde die Analyse von 14 Kiwifrüchten pro Sekunde in einer Linie ermöglichen. Dies ist ausreichend für selbst schnelle Sortiereinrichtungen von Früchten.



Abb. 14: Regressionsmodelle für die logarithmisch abgetragenen Profile als Funktion des Anisotropiefaktors (μ_a =0.9 cm⁻¹, μ_s =40 cm⁻¹)



Abb. 15: Vorhergesagte Werte des Anisotropiefaktors für in der Praxis gehandelte Vermarktungsklassen (hard=unreif, soft=überreif)

II.1.1.7. Analyse der Gewebeschädigung nach mechanischer Belastung bei Kiwifrüchten

In drei Messreihen an Kiwifrüchten (n=98, n=84, n=120) wurden jeweils die Hälfte der Proben mechanisch belastet, während die verbleibenden Früchte als Kontrolle dienten. Die mechanische Belastung erfolgte durch eine Fallstufe (0,5 m) auf einen Kraftsensor, wobei die Früchte Kräften von 113,4±1,4 N ausgesetzt wurden. Der Versuch erfolgte mit dem Ziel, die Sensitivität der Rückstreumessung bei der Bestimmung von mechanischer Beschädigung von Kiwifrüchten zu erproben. Dieser Ansatz erschien sinnvoll, da eine mechanische Beschädigung zu Pigmentveränderungen führt und mit Veränderungen der Zellwandintegrität und damit verbundenen Streueigenschaften einhergeht.

Es wurde der gleiche Aufbau wie in den Messreihen zur Simulation der optischen Produkteigenschaften verwendet. Die Datenauswertung erfolgte wie bei der Bestimmung der Textureigenschaften der Früchte (siehe 1.1.6).

Bei mechanisch beschädigtem Gewebe im Vergleich zur Kontrolle wurden tendenziell ähnliche Signalveränderungen bei 670 nm und 785 nm gemessen. Die lineare Diskriminanzanalyse der Früchte (n=120) erfolgte mit einer Kreuzvalidierung bei leave-oneout Datenanordnung.

Die korrekte Klassierung mit den optischen Parametern erfolgte mit 70,49% bei Verwendung der 670 nm Laserdiode und 65,2% bei der Wellenlänge 785 nm. Nach mechanischer Beschädigung nimmt der Chlorophyllgehalt ab. Das leicht verbesserte Ergebnis bei 670 nm erscheint somit plausibel, da veränderte Streueigenschaften sowie das um 670 nm absorbierende Chlorophyll erfasst werden konnten. Die Messungen erfolgten bereits einen Tag nach der Belastung, so dass bei länger vorliegender Beschädigung genauere Klassierungen entsprechend der physiologischen Fruchtreaktion erwartet werden können.

II.1.1.8. Ergebnisse bei der Lagerung von Äpfeln

Die Ausbreitung des Laserlichts in Äpfeln der Sorten "Elstar" und "Pinova" wurde im Rahmen von Rückstreumessungen untersucht. Hierbei wurden Messungen während der Lagerung unter CA-Bedingungen im Kühllager und in der sich anschließenden Nachernteperiode durchgeführt. Es wurden Proben mit drei unterschiedlichen Reifegraden (unreif, reif und überreif) in Einzelzellen von August 2008 bis März 2009 gelagert. Die Lagertemperatur betrug 2°C, die kontrollierte Atmosphäre enthielt 2% CO₂ und 1,5% O₂. Die Nachlagerphase dauerte 2 Wochen bei Raumtemperatur.

Die Größe der gesamten Rückstrahlfläche wurde zusätzlich genutzt, um die Lichtdurchdringung und -verteilung im Apfelgewebe zu beschreiben. Die elliptischen Verformungen von Profilen mit gleicher Intensität wurden untersucht, um Unterschiede in der Anisotropie in den Früchten auszudrücken (Abbildung 16). Die durchschnittlichen Werte der elliptischen Verformung (de) für die zwei Sorten unterschieden sich gering mit 1.116 für Äpfel der Sorte Elstar und 1.122 für Pinova. Diese Abweichungen von der Kreissymmetrie sind geringer als sie von typischen anisotropen Strukturen bekannt sind (de>1.4) (Sviridov *et al.* 2005; Hebden *et al.* 2004).

Die stochastische numerische Monte Carlo Methode wurde genutzt, um die mit einer Kamera gemessene räumliche Intensitätsverteilung zu simulieren. Die berechneten Profile wurden

mit einem theoretischen Diffusionsmodell validiert. Der Vergleich der simulierten und gemessenen Rückstreuprofile kann genutzt werden, um die optischen Eigenschaften zu schätzen. Der Anisotropiefaktor (g) beeinflusst sowohl die Photonenflussdichte wie auch die Photonenverteilung (Baranyai & Zude 2008). Auf der Grundlage dieses Verhaltens wurde der Wert des Anisotropiefaktors entsprechend des Anstiegs des logarithmischen Rückstreuprofils geschätzt.

Während der Lagerung traten Veränderungen in der Größe der Rückstreufläche für die Sorte Pinova auf (Abbildung 17). Obwohl Schwankungen zwischen den aufeinander folgenden Tagen auftraten, ist ein abnehmender Trend bei der Lagerung festzustellen. In der Nachernteperiode drehte sich das Verhalten und die Veränderung dieses Parameters verlief etwa 6mal schneller als im Kühllager. Bei der Lagerung in kontrollierter Atmosphäre waren keine signifikanten Effekte festzustellen. In der Nachernteperiode wurden deutliche Unterschiede gemessen. Für die Sorte Pinova wurden stärkere signifikante Abweichungen festgestellt als für Elstar.

Die gesamte Schwächung der effektiven Intensität verstärkte sich während der Lagerung und Nachernteperiode bei allen drei Reifestufen (Abbildung 18).



Abb. 16: Elliptische Verformung des Rückstreuprofils für Äpfel



Abb. 17: Veränderungen der Größe der Rückstreufläche während der Lagerung bei kontrollierter Atmosphäre für die Sorte Pinova



Abb. 18: Veränderungen der errechneten Photonenlöschung auf der Basis der effektiven Rückstreu-Intensität während der Lagerung von Äpfeln der Sorte Elstar in drei Reifestufen. Fehlerbalken zeigen das Vertrauensintervall bei 95%

II.2. Voraussichtlicher Nutzen, Verwertbarkeit der Ergebnisse

Das entwickelte Sensorsystem ermöglicht die zerstörungsfreie Bestimmung der qualitätsgebenden mechanischen Eigenschaften von gartenbaulichen Produkten. Weiterhin ist mit dem System die selektive Erkennung von mechanisch bedingtem Verderb der Früchte in einem frühen Stadium möglich. Eine Optimierung des Sensorsystems durch Monte-Carlo-Simulationen, wie sie im vorliegenden Projekt für Apfel und Kiwi durchgeführt wurde, scheint für eine kommerzielle Lösung notwendig. Die Software wurde in C++ und Matlab entwickelt und überarbeitet. Das Programm liegt für den Laborbetrieb bzw. zum Implementieren in ein kommerzielles System vor.

Der Demonstrator wird in weiteren Untersuchungen an frischen gartenbaulichen Produkten eingesetzt werden. Es sollen Gespräche mit Sortieranlagenherstellern für die Kommerzialisierung geführt werden. Erste Kontakte wurden bereits aufgenommen. Das Potenzial ist besonders groß bei gegenüber mechanischer Belastung empfindlichen Produkten (Apfel, Birne) sowie bei Produkten mit Problemen in den mechanischen Eigenschaften (beispielsweise Kiwi), da hier erhebliche wirtschaftliche Vorteile gesehen werden.

Aus wissenschaftlicher Sicht ist die weitere grundlegende Untersuchung von Veränderungen des Anisotropiefaktors besonders interessant, da hier nun erstmals eine zerstörungsfreie Methode zur Verfügung steht. Ressourcen für die grundlegenden Arbeiten sollen in einem neuen Projekt beantragt werden.

Weiterhin wird der Demonstrator bei der Erkennung von physiologischen Schäden an Früchten eingesetzt, wie beispielsweise durch Kälte hervorgerufene Texturveränderungen. Hierzu läuft seit 2009 eine Doktorarbeit.

II.3. Fortschritte von anderen Stellen auf dem Gebiet des Vorhabens

Während bei der Arbeitsgruppe mit den ersten Publikationen zur frequenzabhängigen, ortsaufgelösten Rückstreumessung (Professor Lu, USDA, USA) in den letzten drei Jahren keine Innovationen mehr veröffentlicht wurden, haben mittlerweile andere Arbeitsgruppen beispielsweise in Portugal, Ungarn und Spanien mit der Erprobung der Methode begonnen. Die Arbeitsgruppe am ATB hat nun jedoch einen deutlichen Vorsprung und berechnet nach unserem Wissen als einzige Arbeitsgruppe den Anisotropiefaktor aus den effektiven Signalen.

II.4. Erfolgte und geplante Veröffentlichung der Ergebnisse

- Baranyai, L.; Zude, M. (2008a): Analysis of laser light migration in apple tissue by Monte Carlo simulation. Progress in Agricultural Engineering Sciences 4 (1): 45-59
- Baranyai, L.; Zude, M. (2008b): Evaluation of photon migration and laser-induced backscat-tering in kiwifruit. Acta Hort. (ISHS) 802: 247-250
- Baranyai, L.; Zude, M. (2008c): Rapid quality assessment of fruits with machine vision system/ Schnelle Qualitätsbewertung von Früchten mit Hilfe der Bildverarbeitung. Agricultural Engineering/Landtechnik 63: 158-159
- Baranyai, L.; Geyer, M.; Zude, M. (2008): Analysis of photon propagation in kiwifruit by means of backscattering imaging and simulation. Bornimer Agrartechnische Berichte 62: 50-57, ISSN 0947-7314
- Baranya,i L.; Zude, M. (2009): Analysis of grades and bruising of kiwifruit using laser-induced backscattering imaging. Computers and Electronics in Agriculture 69: 33-39

Tagungsbeiträge:

- Baranyai, L.; Regen, C.; Geyer, M.; Zude, M. (2009): Application of Monte Carlo simulation in estimation of anisotropy of fruit tissue. 5th CIGR Postharvest Symposium, Potsdam, Germany
- Baranyai, L.; Regen, C.; Zude, M. (2009): Monitoring optical properties of apple tissue during cool storage. Workshop on Image Analyses in Agriculture, Potsdam-Bornim

- Baranyai, L.; Regen, C.; Geyer, M.; Zude, M. (2009): Analysis of laser-induced diffuse reflectance in apple tissue during controlled atmosphere cool storage. Lippay-Ormos-Vas Scientific Symposium will be at Corvinus University of Budapest, 28-30. October, Hungary
- Baranyai, L.; Regen, C.; Linke, M.; Zude, M. (2010): Estimating optical properties of apples during controlled atmosphere cool storage. ASABE 2010 Annual International Meeting – Pittsburgh, Pennsylvania USA

Literatur

- Baranyai, L.; Geyer, M.; Zude, M. (2008): Analysis of photon propagation in kiwifruit by means of backscattering imaging and simulation. Bornimer Agrartechnische Berichte 62: 50-57, ISSN 0947-7314.
- Baranyai, L.; Zude, M. (2008a): Analysis of laser light migration in apple tissue by Monte Carlo simulation. Progress in Agricultural Engineering Sciences 4 (1): 45-59.
- Baranyai, L.; Zude, M. (2008b): Rapid quality assessment of fruits with machine vision system/ Schnelle Qualitätsbewertung von Früchten mit Hilfe der Bildverarbeitung. Agricultural Engineering/Landtechnik 63: 158-159.
- Baranyai, L.; Zude, M. (2008c): Evaluation of photon migration and laser-induced backscattering in kiwifruit. Acta Hort. (ISHS) 802: 247-250.
- Baranyai, L.; Zude, M. (2009): Analysis of grades and bruising of kiwifruit using laser-induced backscattering imaging. Computers and Electronics in Agriculture 69: 33-39.
- Binzoni, T.; Courvoisier, C.; Giust, R.; Tribillon, G.; Gharbi, T.; Hebden, J.C.; Leung, T.S.; Roux, J.; Delpy, D.T. (2006): Anisotropie photon migration in human skeletal muscle. Physics in Medicine and Biology 51, N79-N90.
- Binzoni, T.; Leung, T.S.; Giust, R.; Rüfenacht, D.; Gandjbakhche, A.H. (2008): Light transport in tissue by 3D Monte Carlo: Infuence of boundary voxelization. Computer Methods and Progams in Biomedicine, 89, 14-23.
- Cho, Y-J.; Han, Y.J. (1999): Nondestructive characterization of apple firmness by quantitation of laser scatter. Journal of Texture Studies 30, 625-638.
- Conover, W.J. (1999): Practical Nonparametric Statistics. 3. John Wiley & Sons Inc., New York.
- Federico, A.; Kaufmann, G.H. (2006): Evaluation of dynamic speckle activity using the empirical mode decomposition method. Optics Communications 267, 287-294.
- Fernandez, J.E. (2007): Multiple scattering of photons using the Boltzmann transport equation. Nuclear Instruments and Methods in Physic, Research B 263, 7-21.
- Guo, X.; Wood, M.F.G.; Vitkin, A. (2008): A Monte Carlo study of penetration depth and sampling volume of polarized light in turbid media. Optics Communications 281, 380-387.
- Hebden, J.C.; Guerrero, J.J.G.; Chernomordik, V.; Gandjbakhche, A.H. (2004): Experimental evaluation of an anisotropic scattering model of a slab geometry. Optics Letters 29 (21), 2518-2520.
- Heino, J.; Arridge, S.; Sikora, J.; Somersalo, E. (2003): Anisotropic effects in highly scattering media. Physical Review E 58, 031908-1 031908-8.
- Jacques, S.L. (1998): Light distributions from point, line and plane sources for photochemical reactions and f1uorescence in turbid biological tissues. Photochemistry and Photobiology 67(1), 23-32.
- Jordan, R.B.; Walton, E.F.; Klags, K.U.; Seelye, R.J. (2000): Postharvest Fruit density as an indicator of dry matter and ripened soluble solids of kiwifruit. Postharvest Biology and Technology 20, 163 173.
- Kienle, A.; Forster, F.K.; Diebolder, R.; Hibst, R. (2003): Light propagation in dentin: influence of microstructure on anisotropy. Physics in Medicine and Biology 48, N7-NI4.
- Kienle, A.; Forster, F.K.; Hibst, R. (2004): Anisotropy of light propagation in biological tissue. Optics Letters 29(22), 2617-2619.

- Lu, R. (2004): Multispectral imaging for predicting firmness and soluble solids content of apple fruit Postharvest Biology and Technology 31, 147-157.
- Mao, L.; Wang, G.; Que, F. (2007): Application of 1-methylcyclopropene prior to cutting reduces wound responses and maintains quality in cut kiwifruit. Journal of Food Engineering 78, 361-365.
- McGlone, V.A.; Jordan, R.B. (2000): Kiwifruit and apricot firmness measurement by the non-contact laser air-puff method. Postharvest Biology and Technology 19, 47-54.
- McGlone, V.A.; Jordan, R.B.; Seelye, R.; Martinsen, P.J. (2002): Comparing density and NIR methods for measurement of kiwifruit dry matter and soluble solids content. Postharvest Biology and Technology 26,191-198.
- McGlone, V.A.; Clark, C.J.; Jordan, R.B. (2007): Comparing density and VNIR methods for predicting quality parameters of yellow-f1eshed kiwifruit (Actinidia chinenis). Postharvest Biology and Technology 46 (1), 1-9.
- Muramatsu, N.; Sacurai, N.; Wada, N.; Yamamoto, R.; Takahara, T.; Ogata, T.; Tanaka, K.; Asakura, T.; Ishikawa-Takano, Y.; Nevins, D.J. (1999): Evaluation of fruit tissue texture and internal disorders by laser Doppler detection. Postharvest Biology and Technology 15, 83 -88.
- Noh, H.K.; Lu, R. (2007): Hyperspectral laser-induced fluorescence imaging for assessing apple fruit quality. Postharvest Biology and Technology 43, 193-201.
- Pajuelo, M.; Baldwin, G.; Rabal, H.; Cap, N.; Arizaga, R.; Trivi, M. (2003): Bio-speckle assessment of bruising in fruits. Optics and Lasers in Engineering 40, 13-24.
- Passoni, I.; Dai Pra, A.; Rabal, H.; Trivi, M.; Arizaga, R. (2005): Dynamic speckle processing using wavelets based entropy. Optics Communications 246 (1-3), 219-228.
- Peng, Y.; Lu, R. (2007): Prediction of apple fruit firmness and soluble solids content using characteristics of multispectral scattering image. Journal of Food Engineering 82, 142-152.
- Peng, Y.; Lu, R. (2008): Analysis of spatially resolved hyperspectral scattering images for assessing apple fruit firmness and soluble solids content. Postharvest Biology and Technology 48, 52-62.
- Qin, J.; Lu, R. (2006): Measurement of the optical properties of apples using hyperspectral diffuse reflectance imaging. ASABE Paper No. 063037. Portland, Oregon.
- Qin, J.; Lu, R. (2007): Monte Carlo simulation of light propagation in apples. ASABE Paper No. 073058. Minneapolis, Minnesota.
- Qin. J.; Lu. R. (2008): Measurement of the optical properties, of fruits and vegetables using spatially resolved hyperspectral diffuse reflectance imaging technique. Postharvest Biology and Technology 49 (3), 355-365.
- Qing, Z.; Ji, B.; Zude, M. (2007a): Predicting soluble solid content and firmness in apple fruit by means of laser light backscattering image analysis. Journal of Food Engineering 82, 58-67.
- Qing, Z.; Ji, B.; Zude, M. (2007b): Wavelength selection for predicting physicochemical properties of apple fruit based on near-infrared spectroscopy. Journal of Food Quality 30, 511-526.
- Qing, Z.; Ji, B.; Zude, M. (2008): Non-destructive analyses of apple quality parameters by means of laser-induced light backscattering imaging. Postharvest Biology and Technology 48, 215-222.
- Roudot, A.C. (1989): Image analysis of kiwi fruit slices. Journal of Food Engineering 9, 97-118.
- Schaare, P.N.; Fraser, D.G. (2000): Comparison of reflectance, interactance and transmission modes of visible-near infrared spectroscopy for measuring internal properties of kiwifruit (Actinidia chinensis). Postharvest Biology and Technology 20, 175-184.
- Scot, V.; Fernandez, J.E.; Vincze, L.; Janssens, K. (2007): 3D extension of the Monte Carlo code MCSHAPE for photon-matter interactions in heterogeneous media. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 263, 204-208.
- Sviridov, A.; Chernomordik, V.; Hassan, M.; Russo, A.; Eidsath, A.; Smith, P.; Gandjbakhche, A.H. (2005): Intensity profiles of linearly polarized light backscattered from skin and tissue-like phantoms. Journal of Biomedical Optics 10(1), 014012-1-014012-9.
- Tickner, J.; Roach, G. (2007): PHOTON -an optical Monte Carlo code for simulating scintillation detector responses. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B 263, 149-155.

- Torricelli, A. (2009): Determination of optical properties in turbid media: time-resolved approach. In: Zude, M. (Ed.) Optical Methods for Monitoring Fresh and Processed Agricultural Crops, CRC Press
- Vilas-Boas, E.V. de B.; Kader, A.A. (2007): Effect of 1-methylcyclopropene (I -MCP) on softening of fresh-cut kiwifruit, mango and persimmon slices. Postharvest Biology and Technology 43, 238-244.
- Wang, L.; Jacques, S.L.; Zheng, L. (1997): CONV-convolution for responses to a finite diameter photon beam incident on multi-layered tissues. Computer Methods and Programs in Biomedicine 54, 141-150.
- Wulf, J.S.; Rühmann, S.; Regos, I.; Puhl, I.; Treutter, D.; Zude, M. (2008): Nondestructive application of laser-induced fluorescence spectroscopy for quantitative analyses of phenolic compounds in strawberry fruits (Fragaria x ananassa). Journal of Agricultural and Food Chemistry 56 (9): 2875–2882
- Zolek, N.S.; Liebert, A.; Maniewski, R. (2006): Optimization of the Monte Carlo code for modeling of photon migration in tissue. Computer Methods and Programs in Biomedicine 84, 50-57.
- Zhu, D.Z.; Ji, B.P.; Eum, H.L.; Zude, M. (2009): Evaluation of the non-enzymatic browning in thermally processed apple juice by front-face fluorescence spectroscopy. Food Chemistry 113: 272–279
- Zude, M. (2006): Non-invasive sensing of vitamins and provitamins in horticultural products. In: Laser-Optik-Berlin Congress, March 23-24, Berlin.
- Zude, M.; Spinelli, L.; Torricelli, A. (2008): Approach for non-destructive pigment analysis in model liquids and carrots by means of time-of-flight and multi-wavelength remittance readings. Analytica Chimica Acta 623, 204-212.

Teilprojekt 2.2 "Entwicklung von Biosensoren zur prozessbegleitenden Detektion von human- und phytopathogenen Mikroorganismen bei der Aufbereitung pflanzlicher Frischeprodukte"

Berichterstatter: Holger Adamzig, Antje Fröhling, Lena Hausdorf, Michael Klocke, Stephanie Lemke, Bernd Loechel, Oliver Schlüter, Thomas Sichting

Teil I Kurzdarstellung

I.1. Aufgabenstellung

Frischeprodukte sind nach der Ernte mit anhaftenden Partikeln wie z.B. Erde und Blättern sowie mit Mikroorganismen behaftet. Der mikrobielle Oberflächenbesatz von Frischeprodukten kann grundsätzlich human- und phytopathogene Bakterien in wechselnden Konzentrationen beinhalten. Die jeweilige mikrobielle Kontamination der Frischeprodukte kann unter bestimmten Umständen zu erhöhten Lagerverlusten in der Nacherntekette führen. Insbesondere mit humanpathogenen Keimen kontaminierte Frischeprodukte stellen eine bislang kaum systematisch untersuchte Gefahr für die menschliche Gesundheit dar.

Zur Hygienisierung von frischen pflanzlichen Produkten werden daher bestimmte Reinigungsschritte vorgenommen. Einfache Waschschritte führen jedoch nur zu einer Reduzierung der mikrobiellen Kontamination um 1-2 log-Stufen. Auch nach wiederholten Waschschritten können noch genügend Mikroorganismen an der Oberfläche von Frischeprodukten vorhanden sein, um bei längeren Lagerzeiten insbesondere in Kombination mit falschen Lagerbedingungen eine erneute Besiedelung der Frischeprodukte vorzunehmen.

Zur Kontrolle des Hygienisierungserfolgs ist somit neben der bloßen Quantifizierung der Mikroorganismen auch die Kenntnis der nach der Wäsche auf dem Produkt verbleibenden Arten sowie deren jeweilige Vermehrungsrate von Bedeutung. Bisherige mikrobiologische Analysen zur spezifischen Detektion von Mikroorganismen sind sehr zeit-, material- und arbeitsintensiv und können bislang nur ansatzweise in den Produktionsprozess von frischen pflanzlichen Produkten integriert werden.

Ziel dieses Teilprojektes war daher die Entwicklung von alternativen Methoden zur sowohl spezifischen als auch quantitativen Detektion von Verderborganismen am Beispiel von Waschwasser aus der Gemüseproduktion. Als methodische Ansätze hierfür wurden konventionelle und quantitative (real-time) PCR sowie durchflusszytometrische Verfahren genutzt. Basierend auf der im Rahmen des Teilprojektes entwickelten grundlegenden Methodik wurden robuste, automatisierbare und einfach anwendbare Applikationen zur Detektion spezifischer Schadorganismen entwickelt.

I.2. Voraussetzungen für das Projekt

Das Vorhaben wurde in den Jahren 2006 bis 2009 am Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. (ATB) als Gemeinschaftsvorhaben der Abteilungen Technik im Gartenbau (AG Lebensmittelsicherheit) und Bioverfahrenstechnik (AG Molekularbiologie) durchgeführt. Als externe Partner waren das Helmholtz-Zentrum Berlin für Materialien und Energie - Speicherring BESSY II, Anwenderzentrum für Mikrotechnik (AZM), die Firma ELBAU Elektronik Bauelemente GmbH, Berlin, und, als Gemüse verarbeitender Betrieb, die Firma Frenzel Oderland-Tiefkühlkost GmbH, Manschnow, beteiligt. Im Rahmen des Vorhabens wurde zudem eine Kooperation mit der Fachhochschule Anhalt, Institut für Molekularbiologie (IMB), aufgebaut.

Für das Vorhaben waren folgende technische und organisatorische Voraussetzungen gegeben:

Die Abteilung Technik im Gartenbau verfügt über langjährige Erfahrung in der Nachernte-Aufarbeitung und Lagerung von Obst und Gemüse. Hierbei werden alle Faktoren untersucht, welche für die Sicherung der Qualität von der Ernte bis hin zum Verbraucher relevant sind. Ein Schwerpunkt der Arbeiten liegt in der Entwicklung und Etablierung von Verfahren und Sensoren zur zerstörungsfreien Erkennung innerer und äußerer Qualitätsparameter sowie zum Monitoring einzelner Prozessstufen bis hin zur gesamten Nacherntekette. Im Bereich der Lebensmittelsicherheit liegt der Fokus der Arbeiten auf der Entwicklung und Prüfung neuartiger Verfahren zur schonenden Hygienisierung von Frischeprodukten.

Die Abteilung Bioverfahrenstechnik entwickelt neue Verfahren für die biotechnologische Konversion nachwachsender Rohstoffe zur Energiegewinnung und zur Erzeugung von Grundchemikalien. Bearbeitet werden schwerpunktmäßig Aspekte der verfahrenstechnischen Grundlagen der Biokonversion, der Umweltbioverfahrenstechnik sowie der technischen Mikrobiologie. Auf dem Gebiet der mikrobiologischen Forschung liegen Schwerpunkte in der Charakterisierung mikrobieller Lebensgemeinschaften in Systemen der Agrartechnik, in der Entwicklung von marker-gestützten Nachweisverfahren für verfahrenstechnisch relevante Mikroorganismen sowie in der Prozess begleitenden mikrobiologischen Analytik zur Identifikation von Kontaminanten und neuen Isolaten.

Das Anwenderzentrum für Mikrotechnik am Helmholtz-Zentrum Berlin für Materialien und Energie - Speicherring BESSY II besitzt eine langjährige Expertise in dem Bereich Mikro-Fluidiksysteme und ist ein kompetenter Partner für die Fertigung einzelner Mikrokomponenten wie auch kompletter miniaturisierter Biochip-Systeme.

Die Firma ELBAU GmbH, Berlin, verfügt über ein erfahrenes Forschungs- und Entwicklungspotenzial auf den Gebieten der Materialuntersuchung und Sensorentwicklung, Dickschichttechnologie, Aufbau- und Verbindungstechnologie in der Mikroelektronik sowie in der Elektrochemie. Das mittelständige Unternehmen verfügt über eine große und langjährige Kompetenz bei der Umsetzung entsprechender Projekte. Als weiterer Partner aus der Wirtschaft war an dem Vorhaben die Firma Frenzel Oderland-Tiefkühlkost GmbH, Manschnow, beteiligt. Diese Firma reinigt und verarbeitet in großem Umfang verschiedene Gemüsearten u.a. zu Tiefkühlprodukten.

I.3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Im Rahmen des beantragten Projektes sollten folgende Teilaspekte bearbeitet werden:

(1) Analyse der mikrobiellen Kontaminanten nach verschiedenen Reinigungsschritten während der Aufarbeitung von Gemüse unter Verwendung klassischer mikrobiologischer Methoden (Plattentest, Zellfärbung, mikroskopische Analysen) sowie molekulargenetischer Verfahren (Fingerprint-Analysen, Klonierung und Sequenzierung des bakteriellen 16S rRNA Gens)

(2) Etablierung von Methoden zur Erfassung der mikrobiellen Belastung in Waschwasser mittels Durchflusszytometrie (Probenvorbereitung, automatische Erfassung von Zelldichten, Etablierung der Erfassung von Lebend/Tot-Verhältnissen)

(3) Entwicklung von artspezifischen Markern basierend auf artspezifischen DNA-Sequenzen für Verderborganismen insbesondere phytopathogener Mikroorganismen unter besonderer Berücksichtung der in (1) erhaltenen Daten bzw. Anpassung entsprechender Markersysteme aus der Literatur gemäß der probenspezifischen Anforderungen

(4) Entwicklung bzw. Etablierung von qualitativen Nachweisverfahren mittels konventioneller Polymerase-Kettenreaktion (PCR) für die in (1) determinierten Verderberreger im Vergleich mit Referenzarten bzw. -proben (= Test auf Spezifität der Marker)

(5) Entwicklung von quantitativen Nachweisverfahren mittels realtime PCR (QPCR) für die in
 (1) determinierten Verderberreger (= Kalibrierung des Signals auf bestimmte Zelldichten);
 Prüfung der Eignung von RNA und DNA als Ziel für die QPCR; Vergleich der Ergebnisse mit den in (2) erhaltenen Daten

(6) Übertragung der Ergebnisse von (5) zur Entwicklung von artspezifischen Fluoreszenz-Sonden für die Durchflusszytometrie; Entwicklung eines entsprechenden Protokolls

(7) Übertragung der Ergebnisse von (5) zur Entwicklung von miniaturisierten PCR-Applikationen (Biosensor), Herstellung eines Gebrauchsmusters

(8) Prüfung der in (6) und (7) entwickelten Verfahren und Entwicklung von Strategien für eine automatisierte Anwendung in der Gemüseproduktion

Aus technischen Gründen wurden die einzelnen Punkte wie folgt modifiziert:

zu (1) Im Rahmen dieses Teilprojektes wurde ausschließlich die Reinigung von Gemüse (Karotten, Spinat) betrachtet. Waschstrecken von Kartoffeln und Obst konnten nicht beprobt werden.

zu (2) Keine Änderungen gegenüber der geplanten Durchführung

zu (3) In den untersuchten Betrieben wurden Hinweise auf die Ansiedelung von potenziell humanpathogenen *Arcobacter*-Arten gefunden. Daher wurde diese bislang nur von vergleichsweise wenigen Studien behandelte Gattung als Modellorganismus für potenziell humanpathogene Mikroorganismen ausgewählt. Als Modellkeim für Pflanzenpathogene wurde *Pectobacterium carotovorum* gewählt.

zu (4) In Ergänzung zu dem ursprünglichen Versuchsprogramm wurden Multiplex-PCR-Assays zur parallelen Detektion verschiedener Varianten des Zielorganismus *Arcobacter* spp. entwickelt. zu (5) Die Etablierung der quantitativen realtime PCR (QPCR) als quantitatives Nachweisverfahren wurde ausschließlich unter Nutzung von DNA als Template durchgeführt. Auf die Etablierung einer RT-QPCR wurde verzichtet.

zu (6) Das Arbeitsziel wurde wie geplant umgesetzt. Allerdings sind weitere Arbeiten zur Optimierung und Prüfung erforderlich.

zu (7) Alle von den Kooperationspartnern zur Verfügung gestellten Muster wurden geprüft.

zu (8) Da die entwickelten Verfahren bislang nur unter Laborbedingungen getestet wurden, sind zur Erlangung der Praxistauglichkeit weitere Arbeiten unabdingbar. Theoretische Überlegungen zur Anwendbarkeit haben daher nur vorläufigen Charakter.

I.4. Stand von Wissenschaft und Technik

Frisches Obst und Gemüse ist mit wechselnd hohen Konzentrationen (2-9 log Stufen) an Mikroorganismen belastet. Der Kontaminationsgrad ist sowohl saisonabhängig als auch abhängig von der Fruchtart (Ölmez & Kretzschmar 2009). Neben der natürlichen im Allgemeinen nicht-pathogenen mikrobiellen Flora können sich auch potenziell als human- und phytopathogen einzustufende Bakterien auf den Produkten ansiedeln (Francis *et al.* 1999). Dabei wird der Verderb von Obst hauptsächlich durch Milchsäurebakterien, Hefen und Schimmelpilze hervorgerufen, während für den Verderb von Gemüse in Form von Nassfäule überwiegend pectolytisch aktive Bakterien verantwortlich sind (Liao 2006). Die bakterielle Nassfäule wird dabei zu 90% von Pseudomonaden und Pectobacterien verursacht (Nguyenthe & Carlin 1994).

Außer als Verursacher von Lagerschäden sind bestimmte Vertreter von Mikroorganismen auch aus hygienischer Sicht bedeutsam. Insbesondere die Kontamination der Frischeprodukte mit humanpathogenen Bakterien wie z.B. Listerien, pathogene *E. coli* Stämme, Salmonellen, *Yersinia* oder *Campylobacter* aber auch mit Viren und Parasiten ist möglich und stellt ein nicht zu unterschätzendes Risiko für die menschliche Gesundheit dar (Beuchat 1996, 1998; Everis 2004; CAST 2009).

Mit dem steigenden Konsum von frischem Obst und Gemüse und dem in diesem Falle fehlenden Inaktivierungsschritt während der Aufbereitung (Rediers *et al.* 2009) ist eine zunehmende Zahl der lebensmittelbedingten Erkrankungen zu beobachten, die auf den Verzehr von Frischeprodukten zurückzuführen ist (Little & Gillespie 2008; Doyle & Erickson 2008). Die Ursachen für die Kontamination von Obst und Gemüse sind sehr vielfältig, wobei die Kontamination auf allen Stufen zwischen Produzent bis hin zum Verbraucher erfolgen kann (Beuchat 1996; Everis 2004).

Bei der Aufbereitung von Gemüse wird üblicherweise zur Entfernung von Schmutzpartikeln ein Reinigungsschritt in Form von Waschen durchgeführt. Jedoch wird durch einfaches Waschen die mikrobielle Belastung nur um weniger als 2 log Stufen reduziert (Sapers 2001), was bei einem hohen Kontaminationsgrad aus hygienischer Sicht nicht ausreichend ist. Ein effektives Dekontaminationsverfahren sollte wenigstens zu einer Reduktion der Gesamtkeimzahl um 5 log Stufen führen (bzw. im Falle von Enterobakterien als Indikatorkeim für fäkale Verunreinigungen zu einer Reduktion von 3 log Stufen), um als sicher für den menschlichen Verzehr zu gelten (Doyle & Erickson 2008). Zudem stellt das Reinigungswasser selbst ebenfalls eine Kontaminationsquelle für die Frischeprodukte dar (Doyle & Erickson 2008). Aus diesem Grund ist eine chargenspezifische Prozessführung notwendig, um die mikrobiologischen Kriterien für Frischeprodukte in Europa (geregelt durch European Commission, Commission Regulation (EC) No. 1441/2007) einzuhalten. Voraussetzung hierfür ist die Entwicklung einer schnellen, robusten und automatisierbaren Nachweismethodik, um frühzeitig kritische Keimbelastungen zu erkennen, und gegebenenfalls zeitnah die Behandlung der Rohware zu modifizieren. Die Überwachung des Waschwassers ist hierbei ein geeigneter Angriffspunkt, da die Bakterien hier bereits in Suspension vorliegen und damit ein aufwendiger Aufbereitungsschritt entfällt. Abhängig von dem Kontaminationsgrad des Waschwassers kann dann gezielt die Art der Hygienisierungsmaßnahme abgeleitet werden.

Die klassische, kultivierungsbasierte mikrobiologische Diagnostik ist bekanntermaßen zu zeit-, personal- und kostenintensiv, um in Produktionsprozesse insbesondere von Frischeprodukten eingebunden zu werden. Ebenso sind klassische Verfahren im Allgemeinen zu unspezifisch, um zwischen pathogenen Stämmen und nahe verwandten, aber nicht pathogenen Vertretern unterscheiden zu können. Daher beschränkt sich die mikrobiologische Diagnostik zumeist auf die nachträgliche Untersuchung des Frischeprodukts auf Indikatorkeime oder auf die Bestimmung der Gesamtlebendkeimzahl. Insbesondere letztere Kenngröße erscheint bedenklich unter der Aussage, wonach nur etwa 0,1% aller Bakterien kultivierbar sind (Nealson 2009).

Zur Inventarisierung der mikrobiellen Artenvielfalt werden daher gegenwärtig nahezu ausschließlich kultivierungsunabhängige Methoden basierend auf der Analyse der mikrobiellen DNA genutzt (Amann *et al.* 1995). Die Klassifizierung kann dabei sowohl auf der Sequenzanalyse einzelner DNA-Abschnitte bzw. Gene (z.B. 16S rRNA Gen) erfolgen als auch in der Ermittlung des Metagenoms (= Gesamtheit aller DNA-Sequenzen in einer Probe). Der spezifische Nachweis einzelner Pathogene anhand des Nachweises von für diese Pathogene charakteristischen Gensequenzen kann mittels konventioneller oder quantitativer Polymerase-Kettenreaktion (PCR, QPCR) erfolgen.

Ein alternatives Verfahren zur kultivierungsunabhängigen mikrobiellen Diagnostik stellen zytologische Ansätze wie z.B. die Durchflusszytometrie dar. Im Unterschied zu PCRbasierten Methoden können mit Hilfe der Durchflusszytometrie eine Reihe weiterer, für die Beurteilung des mikrobiellen Status' wichtiger Parameter erfasst werden. Durch den Einsatz geeigneter Fluoreszenzfarbstoffe können u.a. der Nukleinsäureanteil sowie bestimmte Nukleinsäuresequenzen, physiologische Eigenschaften und spezifische Antigene nachgewiesen werden. Zusätzlich können Informationen zur Zellgröße und Oberflächenbeschaffenheit der Zellen ermittelt werden (Shapiro 2000). Die Anwendung von fluoreszenzmarkierten Sonden und Antikörpern ermöglicht eine automatische und spezifische Detektion von Bakterien sowohl in Reinkulturen wie auch in Umweltproben (Amann et al. 1990; Wallner et al. 1993; Vesey et al. 1994; Davey 2002; Tang et al. 2005). So konnte z.B. mittels monoklonaler Antikörper die bakterielle Belastung von Wasser, Abwasser und Bodenproben bestimmt werden (Thomas et al. 1997). Entsprechende Arbeiten wurden auch für die Lebensmittelproduktion durchgeführt, welche die grundsätzliche Anwendbarkeit dieses Verfahrens belegen. So konnten beispielsweise pathogene E. coli Stämme in Lebensmittelinhaltsstoffen (Kusunoki et al. 1998) oder die Belastung von Milch mit Staphylokokken und Clostridien detektiert werden (lannelli et al. 1998, Lavilla et al. 2010).

Eine Identifikation und Quantifizierung von lebenden Hefen war durch die Nutzung von fluoreszenzmarkierten Antikörpern und Farbstoffen bei der Weinherstellung möglich (Rodriguez & Thornton 2008). Die quantitative Erfassung von Keimbelastungen in Milch (Gunasekera *et al.* 2000), Fischprodukten (Endo *et al.* 2001) und probiotischen Lebensmittelzusätzen (Bunthof 2002) mit Hilfe der Durchflusszytometrie wurde bereits dokumentiert. Die Ermittlung von bakteriellen physiologischen Eigenschaften ist gerade für die Detektion von gestressten Bakterien von großer Bedeutung (Hewitt & Nebe-von-Caron 2004), um z.B. einen nachgeschalteten Hygienisierungsschritt zu überwachen. Die Anwendung der Durchflusszytometrie zur Überprüfung des Inaktivierungserfolges von Behandlungsverfahren ist in zahlreichen Studien dokumentiert (z.B. Suller & Lloyd 1999; Budde & Rasch 2001; Yaqub *et al.* 2004; Luscher *et al.* 2004; Ananta *et al.* 2005; Aronsson *et al.* 2005; Berney *et al.* 2006, Berney *et al.* 2007; Da Silveira & Abee 2009).

I.5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Das Vorhaben wurde durch das Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. (ATB) koordiniert und als Gemeinschaftsvorhaben der Abteilungen Technik im Gartenbau und Bioverfahrenstechnik durchgeführt. Externe Partner waren das Helmholtz-Zentrum Berlin für Materialien und Energie - Speicherring BESSY II, Anwenderzentrum für Mikrotechnik (AZM), die Firma ELBAU Elektronik Bauelemente GmbH, Berlin, die Firma Frenzel Oderland-Tiefkühlkost GmbH, Manschnow, sowie die Fachhochschule Anhalt, Institut für Molekularbiologie (IMB).

Teil II Eingehende Darstellung

II.1. Ergebnisse

II.1.1. Analyse der mikrobiellen Kontaminanten nach verschiedenen Reinigungsschritten während der Aufarbeitung von Gemüse

Mikrobielle Belastung im Zuge der Reinigung von Möhren

Eine Aufarbeitungslinie zur Reinigung von Möhren wurde im Dezember 2006 beprobt. Folgendes Probenmaterial wurde entnommen: (1) Möhrenoberfläche vor der Wäsche, (2) Waschwasser aus der Waschtrommel, (3) Wasser aus dem Transportkanal, (4) Möhrenoberfläche nach der Wäsche. Mittels kultivierungsbasierter Standardverfahren ("Plattentests") wurden die Lebendkeimzahl, die Lebendkeimzahl der Gram-negativen Bakterien sowie die Lebendkeimzahl an *Escherichia coli* bzw. coliformen Bakterien bestimmt. Ergänzend erfolgte die Bestimmung der Gesamtkeimzahl mittels Partikelzählgerät (Multisizer™ 3 Coulter Counter®, Beckman Coulter).





Die Lebendkeimzahl des Waschwassers in der Trommelwäsche betrug 1,54 x 10⁷ koloniebildende Einheiten (KBE) je ml Wasser (Abb. 1). Die auf den Nährböden gewachsenen Kolonien waren rosa, gelb, dunkelgelb, farblos und beige gefärbt (Abb. 2A). Die Färbung deutet auf die Anwesenheit von *Staphylococcus aureus, E. coli, Bacillus subtilis, Streptococcus pyrogenes* sowie der Hefe *Candida albicans* hin. In zwei Fällen wurde *Bacillus mycoides* auf den Testplatten gefunden.



Abb. 2: Plattentests inokuliert mit Möhrenwaschwasser. Als Medium wurden Universalmedium (A), Selektivnährboden für Gram-negative Bakterien (B) und Selektivnährboden für *E. coli* und coliforme Keime (C) verwendet

Die Lebendkeimzahl der Gram-negativen Bakterien betrug im Waschwasser aus der Trommel 1,14 x 10^5 KBE ml⁻¹ (Abb. 2). Die Verfärbung des Nährbodens MacConkey-Agar ins Gelbe deutete auf die Anwesenheit von Salmonellen, Shigellen und *Proteus* sp. hin (Abb. 2B). Rote und rosa Kolonien geben Hinweis auf die Anwesenheit von *E. coli, Enterobacter* sp. und *Klebsiella* sp. Des Weiteren kann die Anwesenheit von Enterokokken und Staphylokokken im Wasser vermutet werden.

Mittels Plattentest auf Nährmedium für coliforme Keime (Chromocult-coliformen Agar) konnte nur in einem einzigen Fall eine Kolonie für *E. coli* gefunden werden. Jedoch wurden in allen Proben verschiedene andere coliforme Bakterien gefunden (Abb. 2C). Aufgrund der Kolonie-färbung gibt es Hinweise auf die Anwesenheit von *Citrobacter freundii* und *Salmonella enteritidis*.

In der Wasserprobe aus dem Transportkanal wurde eine geringere Keimdichte als in der Waschtrommel gefunden. Die Lebendkeimzahl im Wasser betrug 5,04 x 10^4 KBE ml⁻¹ (Abb. 1). Die auf den Nährböden gewachsenen Kolonien wiesen die gleichen Färbungen und Strukturmerkmale wie die Kolonien aus der Waschtrommelprobe auf. Dieses deutet auf eine grundsätzlich ähnliche Zusammensetzung der mikrobiellen Biozönose hin. Die Lebendkeimzahl für Gram-negative Bakterien lag bei 4,57 x 10^3 KBE ml⁻¹. Gram-negative Bakterien wie *E. coli* und andere Enterobakterien scheinen also nur etwa ein Zehntel der gesamten Mikroflora auszumachen. Hierbei ist jedoch zu berücksichtigen, dass die überwiegende Mehrheit der Mikroorganismen nicht oder nur sehr schwer kultivierbar ist. Schätzungen zufolge können nur etwa 0,1% der mikrobiellen Arten problemlos auf konventionellen Kulturmedien angezogen werden (Nealson 2009). Daher ist davon auszugehen, dass in den nicht bestimmten 90% der Mikroorganismen trotz der Ergebnisse des Plattentests ein gewisser Anteil, unter Umständen sogar die Majorität, an Gram-negativen Bakterien enthalten ist.

Vor dem Waschen lag die Lebendkeimzahl der Möhren bei $1,43 \times 10^{6}$ KBE ml⁻¹ und wurde durch das Waschen um eine log-Stufe auf $1,43 \times 10^{5}$ KBE ml⁻¹ reduziert. Die Anzahl der Gram-negativen Bakterien betrug vor dem Waschen $4,33 \times 10^{5}$ KBE ml⁻¹ und nach dem Waschen $1,90 \times 10^{5}$ KBE ml⁻¹. Der grundsätzliche Erfolg des Waschens zur Reduzierung der Keimbelastung auf den Möhren erscheint daher fraglich.

Wasser aus	Lebendkeimzahl [KBE ml ⁻¹]	Gesamtkeimzahl [Partikel ml ⁻¹]
Trommelwäsche	1,5 x 10 ⁷	5,1 x 10 ⁷
Transportkanal	5,4 x 10⁴	1,8 x 10 ⁷

Tab. 1: Lebendkeimzahl ermittelt durch Plattenzählverfahren und Gesamtkeimzahl ermittelt per Partikelzählgerät in Möhrenwaschwasser

Die Erfassung der Gesamtkeimzahl per Partikelzählgerät ergab eine höhere Belastung des Waschwassers als die mikrobiologischen Plattentests (Tab. 1). Besonders hohe Abweichungen ergeben sich für die Proben aus dem Transportkanal, wobei als Gesamtkeimzahl ein ca. 1000x höherer Wert als für die Lebendkeimzahl ermittelt wurde. Hierfür kommen grundsätzlich drei Erklärungen in Frage: (1) Aus unbekannten Gründen ist in der wässrigen Phase des Transportkanals ein Großteil der Mikroorgansimen abgestorben. (2) Die kultivierungsbasierten Nachweise detektieren nur einen Teil der mikrobiellen Diversität, die in diesem Habitat vorrangig auftretenden Mikroorganismen sind nicht kultivierbar. (3) Das Messverfahren wird durch im Wasser vorhandene Schwebstoffe gleicher Größe wie Bakterien verfälscht.

Eine Übersicht über die mikrobielle Diversität im Möhrenwaschwasser wurde durch die Analyse der Variabilität des 16S rRNA Gens ("16S rDNA") erhalten. Hierzu wurde aus einer Probe des Waschwassers die gesamte mikrobielle DNA isoliert und eine Klonbibliothek für das Zielgen erstellt. Diese Klonbibliothek umfasste ca. 420 Klone, welche mittels *amplified rDNA restriction analysis* (ARDRA) in 94 *operational taxonomic units* (OTUs) gruppiert werden konnten. Repräsentativ für jede OTU wurde die 16S rDNA Sequenz eines Klons ermittelt. Sieben Sequenzen wurden mit der Software MALLARD (Ashelford *et al.* 2006) als mögliche Chimären identifiziert und in der weiteren Analyse nicht berücksichtigt.

Die Rarefaction-Methode bestimmt, wie sich die detektierte Zahl der Arten (hier: OTU) in einer Probe in Abhängigkeit von der untersuchten Individuenanzahl (hier: Klone) ändert und reflektiert damit die Aussagekraft der Stichprobe (Hughes *et al.* 2001). Im Falle einer genügend großen Stichprobe sollten auch bei zusätzlich untersuchten Individuen keine neuen Arten mehr gefunden werden.

Für die erzeugte Klonbibliothek ergab eine entsprechende Analyse, dass die Rarefaction-Kurve keine Sättigung erreicht (Abb. 3). Dies deutet darauf hin, dass nicht alle in der Probe enthaltenen OTUs durch die Stichprobe abgebildet wurden. Allerdings zeigt die deutliche Verringerung der Steigung, dass die in der Probe am häufigsten auftretenden OTUs detektiert wurden.



Abb. 3: Rarefaction-Analyse der 16S rRNA Gen Klonbank erstellt aus Möhrenwaschwasser

Die DNA-Sequenzen der 94 OTUs wurden mit Referenzsequenzen aus der Gen-Datenbank (NCBI) zur taxonomischen Klassifikation verglichen (Tab. 2) und phylogenetische Stammbäume erstellt. Hierfür wurde der Neighbor-Joining Algorithmus (Saitou & Nei 1987) mit dem Kimura-2-Parameter (Kimura 1980) und einem Bootstrap-Resampling von 1000 Replikaten (Felsenstein 1985) verwendet. Tab. 2 : Anzahl und Häufigkeit der in der Klonbibliothek detektierten OTUs

Angenommene phylogenetische Zuordnung	Anzahl an OTUs	Relativer Anteil der Klone [%]
Bacteroidetes	17	14
Bacteroidetes Prevotella sp.	3 2	2 <1
Flavobacteria Chryseobacterium sp.	12 3	12 2
Flavobacterium sp.	9	11
Unbekannte Bacteroidetes	2	1
Firmicutes	15	14
Bacilli	11	10
Enterococcus sp.	1	<1 1
Lactococcus sp	1	6
Lactovum sp.	1	<1
Trichococcus sp.	3	1
Weissella sp.	1	1
Unbekannte Bacilli	1	<1
Clostridia	4	5
Psychrosinus sp.	1	<1
Clostridium sp. Unbekannte Clostridia	2 1	4 <1
Proteobacteria	60	71
Alphaproteobacteria	9	3
Agrobacterium sp.	1	<1
Caulobacter sp.	1	<1
Devosia sp.	1	<1
Paracoccus sp.	1	<1
Sphingomonas sp.	2	1
Acetobacter sp.	1	<1
Rhodopseudomonas sp.	1	<1
	1	<1
Betaproteobacteria	22	12
Aquaspirillum sp	1	<1
Duganella sp	3	1
Janthinobacterium sp.	2	1
Polynucleobacter sp.	3	1
Rhodocyclus sp.	1	<1
Rhodoferax sp.	7	4
Thauera sp.	1	<1
Undibacterium sp.	2	1
Formivibrio sp.	1	<1
Gammaproteobacteria	26	47
Acineiobacier sp.	3 2	2
Enterobacter sp	2	1
Erwinia sp.	1	<1
Pantoea sp.	1	<1
Pseudomonas sp.	6	4
Rahnella sp.	3	2
Tolumonas sp.	5	26
Rheinheimera sp.	1	<1
Unbekannte Gammaproteobacteria	2	<1
Epsilonproteobacteria	3	10
Arcobacter sp.	1	9 ~1
Unbekannte Epsilonproteobacteria	1	<1
Unbekannte Bacteria	2	<1

Die meisten OTUs konnten dem Stamm der *Proteobacteria* (71%) zugeordnet werden, mehr als die Hälfte davon gehört zur Klasse der *Gammaproteobacteria* (44,6%), gefolgt von den Klassen der *Beta-* und *Epsilonproteobacteria* (je 11,9%). Die meisten der detektierten *Epsilonproteobacteria* sind Angehörige der Gattung *Arcobacter* (11,4%). In den zehn am häufigsten in der Klonbank detektierten Gattungen sind neben harmlosen Arten auch eine Reihe fakultativer oder nosokomialer Pathogene zu finden (Abb. 4).



Abb. 4: Die zehn häufigsten Gattungen, die in der 16S rRNA Gen Klonbibliothek detektiert wurden und die Anzahl der zugehörigen Klone in Prozent

Die Gattung Arcobacter umfasst verschiedene human- und tierpathogene Arten, wie z.B. Arcobacter butzleri, Arcobacter cryaerophilus, Arcobacter skirrowii und Arcobacter cibarius. Sie werden in Verbindung gebracht mit Durchfallerkrankungen beim Menschen, Fortpflanzungsproblemen in der Viehhaltung und Euterentzündungen (Brightwell *et al.* 2007). Dies ist jedoch das erste Mal, dass Vertreter der Arcobacter in Zusammenhang mit Gemüse nachgewiesen wurden. Die meisten Vertreter der Gattung wurden bisher nur aus Schlachthäusern oder von Fleischprodukten isoliert.

Eine genauere Analyse der Klone, die der Gattung *Arcobacter* zugeordnet wurden, zeigte, dass sich die 16S rRNA Gen Sequenzen deutlich von Sequenzen bekannter *Arcobacter*-Arten aus der Gen-Datenbank unterscheiden (Abb. 5). Dies deutet daraufhin, dass es sich um eine bisher unbekannte Art handeln könnte. Im phylogetischen Dendrogramm gruppieren sich die *Arcobacter*-Klone nicht mit irgendeiner bekannten Art, sondern getrennt davon in einem eigenen Cluster mit *Arcobacter*-Sequenzen, die aus verschiedenen Habitaten isoliert wurden. Zu keiner dieser Sequenzen konnte bislang ein Organismus isoliert und taxonomisch beschrieben werden.



Abb. 5: Phylogenetischer Stammbaum der detektierten OTUs aus der Familie der Campylobacteriaceae der Klasse der Epsilonproteobacteria basierend auf partiellen 16S-rRNA-Gensequenzen. Die genetischen Distanzen wurden anhand von 1329 Basen bestimmt. Der Maßstab zeigt 2% evolutionäre Distanz. Die Nummern an den Knotenpunkten repräsentieren Werte für die Knoten in Prozent (1000-faches Bootstrap-Resampling). Nur Bootstrap-Werte oberhalb von 50% werden gezeigt. *Campylobacter fetus* subsp. *fetus* wurde als Außengruppe verwendet. Nummern in Klammer sind NCBI-Genbank-Accessionnummern. Alle OTUs, die in dieser Studie ermittelt wurden, sind fett gedruckt.

Mikrobielle Belastung im Zuge der Reinigung von Spinat

Die Beprobung einer Aufbereitungslinie von Spinat erfolgte im Oktober 2007 und wurde im Mai 2008 und Juli 2009 wiederholt. Zur Untersuchung der mikrobiologischen Kontamination von Spinatwaschwasser wurden Proben aus allen drei Waschschritten und dem Blancheur entnommen. Ebenso wurde ungewaschener Spinat, Spinat aus allen drei Waschschritten, sowie blanchierter Spinat beprobt.

Die Proben wurden unter steter Kühlung transportiert. Unmittelbar nach dem Transport wurde eine Keimzahlanalyse durchgeführt. Untersucht wurden die Gesamtkeimzahl, die Anzahl der Gram-negativen Bakterien, Anzahl von coliformen Bakterien und die Anzahl von *E. coli*. Außerdem wurde die Partikelanzahl im Partikelzählgerät Multisizer™ 3 Coulter Counter® (Beckman Coulter, Deutschland) ermittelt.

Die Gesamtlebendkeimzahl des Wassers aus der 1., 2., 3. Wäsche und dem Blancheur betrug 4,95 x 10⁷ KBE ml⁻¹, 1,02 x 10⁸ KBE ml⁻¹, 2,71 x 10⁷ KBE ml⁻¹ und 6,35 x 10⁵ KBE ml⁻¹ (Abb. 6, linkes Bild). Die gewachsenen Kolonien deuteten auf die Anwesenheit von *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Bacillus subtilis, Streptococcus pyrogenes* und *Candida albicans* hin.

Die Lebendkeimzahl für Gram-negative Bakterien wurde durch Plattierung auf MacConkey-Agar ermittelt. Sie betrug 7,7 x 10^6 KBE ml⁻¹, 1,48 x 10^7 KBE ml⁻¹, 1,01 x 10^7 KBE ml⁻¹ und 5,00 x 10¹ KBE ml⁻¹ in Wasser aus 1., 2., 3. Wäsche sowie aus dem Blancheur. Die Verfärbung des Nährbodens ins Gelbe deutete auf die Anwesenheit von Salmonellen, Shigellen und *Proteus* sp. hin. Rote und rosa Kolonien deuteten auf die Anwesenheit von *E. coli, Enterobacter* sp. und *Klebsiella* sp. hin. Des Weiteren schienen Enterokokken und Staphylo-kokken im Wasser zu sein. Auf Chromocult®-coliformen Agar waren aus allen Proben blaue Kolonien gewachsen. Dies war ein Anzeichen für die Anwesenheit von *E. coli*. Die Konzentration der *E. coli* Zellen lag in allen Waschschritten über 10⁵ KBE ml⁻¹, und erst nach dem Blanchieren waren keine *E. coli* mehr im Wasser nachweisbar.

Die Gesamtlebendkeimzahl auf Spinat betrug 7,8 x 10^{6} KBE ml⁻¹ für ungewaschenen Spinat, 3,9 x 10^{6} KBE ml⁻¹, 2,6 x 10^{6} KBE ml⁻¹ und 2,4 x 10^{6} KBE ml⁻¹ für Spinat nach der 1., 2. und 3. Wäsche. Nach dem Blanchieren waren noch 7,3 x 10^{3} KBE ml⁻¹ auf dem Spinat zu finden (Abb. 6, rechtes Bild). Die Färbung der Kolonien deutete auf die Anwesenheit von *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Bacillus subtilis, Streptococcus pyrogenes* und *Candida albicans* hin. Die Lebendkeimzahl nur für Gram-negative Bakterien betrug vor der Wäsche 43,75 x 10^{6} KBE ml⁻¹. Nach der 3. Wäsche lag die Keimbelastung immer noch bei 4,25 x 10^{5} KBE ml⁻¹. Eine effektivere Reduzierung wurde wiederum durch das Blanchieren erzielt. Hier nach lag die Lebendkeimzahl für Gram-negative Bakterien bei 1,8 x 10^{3} KBE ml⁻¹.

Die Plattentests deuteten auf die Anwesenheit von verschiedenen Enterokokken und Staphylokokken hin (Abb. 7). Insbesondere *E. coli* konnte alle Waschstufen hindurch detektiert werden. Dabei war die Konzentration an *E. coli* Zellen auf ungewaschenem Spinat mit 1,1 x 10^4 KBE ml⁻¹ am höchsten. Durch das Waschen wurde die Keimbelastung mit *E. coli* auf 7,5 x 10^1 KBE ml⁻¹ reduziert. Nach dem Blanchieren wurde kein *E. coli* mehr auf dem Spinat detektiert.



Abb. 6: Mikrobielle Belastung von Spinatwaschwasser im Juni 2008 (linkes Bild) und im Oktober 2007 (rechtes Bild)



Abb. 7: Mikrobiologische Plattentests von Spinatwaschwasser. A) Universalmedium, B) Selektivnährboden für Gram-negative Bakterien, C) Selektivnährboden für *E. coli* und andere coliforme Keime und D) Selektivnährboden für *Arcobacter*

Bereits der Vergleich von Lebendkeimzahl und Gesamtkeimzahl von Möhrenwaschwasser ergab eine deutlich höhere Gesamtkeimzahl. Dies wurde auch für die Lebendkeimzahl und Gesamtkeimzahl von Spinatwaschwasser ermittelt. Die Unterschiede zwischen der Gesamtkeimzahl gemessen im Coulter Counter und der Lebendkeimzahl gemessen mit dem Plattenzählverfahren (Tab. 3), sind durch die Messung von Sand und nicht-kultivierbaren Bakterien zu erklären.

Spinatwäsche	Lebendkeimzahl [KBE ml ⁻¹] Mai 2008	Gesamtkeimzahl [Partikel ml ⁻¹] Mai 2008
1. Wäsche	4,95 x10 ⁷	2,87 x10 ⁸
2. Wäsche	1,02 x10 ⁸	1,98 x10 ⁸
3. Wäsche	2,71 x10 ⁷	3,02 x10 ⁸
Wasser aus Blancheur	6,35 x10 ⁵	1,27 x10 ⁹

Tab. 3: Vergleich der Lebendkeimzahl ermittelt durch Plattenzählverfahren und der Gesamtkeimzahl ermittelt per Partikelzählgerät in Spinatwaschwasser

Etablierung der Durchflusszytometrie zur Bestimmung der mikrobiellen Belastung

Die Anwendbarkeit von Fluoreszenzfarbstoffen zur Detektion von physiologischen Eigenschaften von Bakterien in der Durchflusszytometrie ist abhängig von der Bakterienart. So ist die Aufnahme von Farbstoffen bei Gram-negativen Bakterien durch deren komplexeren Zellwandaufbau limitiert (Shapiro 2000; Morono et al. 2004). Aus diesem Grund ist die Anwendung von Fluoreszenzfarbstoffen zur Detektion von Lebend/Tot-Verhältnissen im Waschwasser erschwert, da Umweltproben sowohl Gram-negative als auch aus Gram-positive Bakterien enthalten. Dies zeigt sich vor allem bei der Verwendung der Farbstoffe Carboxyfluoreszeindiazetat (cFDA) und Propidiumjodid (PI) zur Ermittlung der Membranintegrität und der Esteraseaktivität von Bakterien in Möhren- und Spinatwaschwasser. Während die Verwendung von Thiazol Orange (TO) in Kombination mit Propidiumjodid (PI) darauf schließen lässt, dass die in dem Waschwasser enthaltenen Bakterien intakte Zellmembranen aufweisen und nur ein geringer Anteil an Zellen nicht angefärbt werden konnte (Abb. 8A-C), wurde bei der Verwendung von cFDA/PI einer hoher Anteil an Zellen nicht angefärbt und war somit nicht charakterisierbar (Abb. 8D-F).



Abb. 8: TO/PI-Färbung (A-C) und cF/PI-Färbung (D-F) von Bakterien in Spinatwaschwasser aus 1. Waschstufe (A,D), 2. Waschstufe (B,E) und 3. Waschstufe (C,F). Falschfarbendarstellung der Fluoreszenzintensitäten (Höhenlinien) von Blau (niedrig) über Gelb (mittel) bis Rot (hoch).

Der Nachweis von intakten Membranen ist jedoch nicht ausreichend, um gesicherte Aussagen über die Vitalität der Zellen zu treffen. Aus diesem Grund wurde ein Färbeprotokoll zur Anfärbung von Gram-negativen Bakterien mit cFDA am Beispiel von Pectobacterium carotovorum entwickelt. Limitierende Faktoren für die Färbung mit cFDA sind die Farbstoffaufnahme, die Fähigkeit cFDA in den Zellen zurückzuhalten (Membranintegrität) sowie aktiver und passiver Farbstoffausschluss (Nebe-von-Caron et al. 2000). Um die Farbstoffaufnahme der Gram-negativen Bakterien zu erhöhen, wurden in verschiedenen Studien Chemikalien wie z.B. EDTA, TE-Puffer oder Glutardialdehyd (GTA) verwendet (Diaper & Edwards 1994; Hoefel et al. 2003; Morono et al. 2004; Ananta et al. 2005, Miyanaga et al. 2007). In Anlehnung an diese Protokolle wurde TE-Puffer und GTA-Puffer verwendet, um die Aufnahme von cFDA durch P. carotovorum zu erhöhen. Dabei wurden verschiedene Konzentrationen an TE-Puffer und GTA-Puffer untersucht und außerdem wurde die optische Dichte (OD₆₂₀) der Bakteriensuspension variiert. P. carotovorum wurde auf Schrägagarröhrchen bei 4°C kurzzeitig gelagert und durch eine einstufige Kultivierung herangezogen oder nach einer Langzeitlagerung als Cryokulturen bei -80°C über eine Vorkultur herangezogen. Die verwendeten Färbeparameter sind in Tab. 4 aufgelistet. Zusätzlich zur cFDA-Färbung wurde 0,03 mM PI zu den Proben zugegeben, um die Membranintegrität zu überprüfen und eine Schädigung der Zellmembran durch die Chemikalien aus zu schließen.

Wachstums- bedingungen	OD 620 nm	Farbstoff- konzentration [mM]	Färbezeit [min]	Chemikalien zur Erhö- hung der Farbstoffauf- nahme	
				GTA-Puffer [mM]	TE-Puffer [mM]
Einstufige Kultivierung (24 h, 30°C,	0,1; 5	0,05	30; 60	94; 71; 47; 24	TRIS: 10 EDTA: 0,5
0 rpm)	5	0,05	10	n.a.	n.a.
Zweistufige Kultivierung	0,1; 5	0,05	15; 30; 45; 60	94; 71; 47; 24	n.a.
(24 h, 30°C, 125 rpm)	0,5; 1; 2.5; 5; 7,5; 10	0,05; 0,83	15; 30; 45; 60	n.a.	n.a.

Tab. 4: Färbeparameter von P. carotovorum. n.a. = nicht analysiert

Bei Verwendung von 94 mM GTA bzw. TE-Puffer (10 mM TRIS/0,5 mM EDTA) konnte keine erhöhte Aufnahme von 0,05 mM cFDA nach 15 min Inkubationszeit bei 37°C durch *P. carotovorum* Zellen im Vergleich zur unbehandelten Probe detektiert werden. Die Verwendung von TE-Puffer und GTA-Puffer führte zu einer Permeabilisierung der Zellmembran (PI-Färbung). Es hat sich gezeigt, dass nach einem Anzüchten der Bakterien über eine Vorkultur weniger Zellen ungefärbt blieben (Abb. 9). Aus diesem Grund wurden die weiteren Versuche mit Bakterien aus einer zweistufigen Kultivierung durchgeführt.



Abb. 9 : Einfluss von TE-Puffer (10 mM TRIS/0,5 mM EDTA) und GTA-Puffer (94 mM) auf die cFDA-Färbung und Vitalität von *P. carotovorum* ($OD_{620} = 5,0$) im Vergleich zu unbehandelten Proben. 0,05 mM cFDA wurde für 15 min bei 37°C inkubiert und 0,03 mM PI für 10 min bei 4°C. (A) unbehandelte Probe; (B) TE-Puffer; (C) GTA-Puffer nach einstufiger Bakterienkultivierung; (D) GTA-Puffer nach zweistufiger Bakterienkultivierung. Schwarze Balken repräsentieren ungefärbte Zellen, dunkelgraue Balken stehen für eine PI-Färbung (permeabilisierte Zellen), hellgraue Balken repräsentieren cF+PI-Färbung (leicht permeabilisierte Zellen mit Esteraseaktivität) und weiße Balken stehen für cF-Färbung (intakte Zellen mit Esteraseaktivität).

Eine Reduzierung der EDTA-Konzentration im TE-Puffer und GTA-Konzentration, um eine Permeabilisierung der Zellen zu vermeiden, führte ebenfalls zu keiner Verbesserung der Farbstoffaufnahme. Für die Färbung von Gram-negativen Bakterien mit cFDA wurden in der Literatur Bakteriensuspensionen mit verschiedenen optischen Dichten verwendet sowie verschiedene Inkubationszeiten für den Farbstoff angewandt. Aus diesem Grund wurde der Ein-
fluss der optischen Dichte und der Farbstoffinkubationszeit in Kombination mit TE-Puffer und GTA-Puffer ermittelt (Abb. 10).



Abb. 10: Einfluss der optischen Dichte und Färbezeit in Kombination mit TE-Puffer und GTA-Puffer auf die Farbstoffaufnahme von *P. carotovorum*. 0,05 mM cFDA wurde für 15 min bei 37°C inkubiert und 0,03 mM PI für 10 min bei 4°C. (A) TE-Puffer, 15 min Inkubation; (B) TE-Puffer, 30 min Inkubation; (C) TE-Puffer, 45 min Inkubation; (D) TE-Puffer, 60 min Inkubation, (E) GTA-Puffer, 15 min Inkubation; (F) GTA-Puffer, 30 min Inkubation, (G) GTA-Puffer, 45 min Inkubation; (H) GTA-Puffer, 60 min Inkubation. Schwarze Balken repräsentieren ungefärbte Zellen, dunkelgraue Balken stehen für eine PI-Färbung (permeabilisierte Zellen), hellgraue Balken repräsentieren cF+PI-Färbung (leicht permeabilisierte Zellen mit Esteraseaktivität) und weiße Balken stehen für cF-Färbung (intakte Zellen mit Esteraseaktivität).

In Anwesenheit von Chemikalien zur Erhöhung der Farbstoffaufnahme zeigt sich, dass bei einer niedrigeren optischen Dichte der Bakteriensuspension das cFDA besser aufgenommen wird als bei einer hohen optischen Dichte. Des Weiteren führt eine Erhöhung der Inkubationszeit zu einer verbesserten Farbstoffaufnahme. GTA schädigt die Zellen stärker als TE-Puffer, wobei ein erhöhter Anteil an ungefärbten Zellen in Anwesenheit von TE-Puffer detektiert wurde. Das im TE-Puffer enthaltene EDTA führt dazu, dass der Farbstoff besser aufgenommen wird, aber gleichzeitig kann das Umwandlungsprodukt cF nicht in den Zellen zurück gehalten werden. Das GTA greift freie Aminogruppen der Bakterien an und erhöht die hydrophoben Eigenschaften der Bakterien, so dass ein Auslaufen von cF verhindert wird (Miyanaga et al. 2007). Auch wenn die Farbstoffaufnahme durch die verwendeten Chemikalien erhöht werden konnte, zeigte sich, dass die verwendeten Konzentrationen toxisch auf die Bakterien wirken. Eine toxische Wirkung von GTA wurde bereits von Vives-Rego et al. (2000) gezeigt. Ein weiterer Nachteil bei der Verwendung von Membran permeabilisierenden Reagenzien sind die veränderten Streueigenschaften und außerdem kann der Vitalitätszustand der Bakterien nicht mehr zuverlässig bestimmt werden. Im Hinblick auf die Verwendung der Durchflusszytometrie zur Überwachung von Hygienisierungsprozessen ist eine zuverlässige Bestimmung des Vitalitätszustandes unerlässlich. Da sich gezeigt hat, dass sowohl die optische Dichte als auch die Inkubationszeit des Farbstoffes die Farbstoffaufnahme durch P. carotovorum beeinflusst, wurden Bakteriensuspensionen mit verschiedenen optischen Dichten hergestellt. Neben der Inkubationszeit wurde auch die Farbstoffkonzentration variiert. Während die Farbstoffaufnahme bei hohen optischen Dichten in Anwesenheit von TE-Puffer oder GTA-Puffer schlechter war als bei niedrigen optischen Dichten, zeigte sich, dass die Farbstoffaufnahme ohne TE-Puffer oder GTA-Puffer bei hohen optischen Dichten verbessert war. Des Weiteren konnte ein positiver Effekt durch Verlängerung der Färbezeit erreicht werden (Abb. 11). Eine Farbstoffkonzentration von 0,05 mM cFDA war jedoch nicht ausreichend, um die Anzahl der ungefärbten Bakterienzellen zu reduzieren. Auch nach 60 min Inkubationszeit waren noch mehr als 20% der Zellen ungefärbt.



Abb. 11: Einfluss der Färbezeit (15 - 60 min) und der optischen Dichte (OD₆₂₀ 0,5 - 10) auf die Farbstoffaufnahme durch *P. carotovorum* bei einer Farbstoffkonzentration von 0,05 mM cFDA. Schwarze Balken repräsentieren ungefärbte Zellen, dunkelgraue Balken stehen für eine PI-Färbung (permeabilisierte Zellen), hellgraue Balken repräsentieren cF+PI-Färbung (leicht permeabilisierte Zellen mit Esteraseaktivität) und weiße Balken stehen für cF-Färbung (intakte Zellen mit Esteraseaktivität).

Aus diesem Grund wurde die Farbstoffkonzentration auf 0,83 mM erhöht und der Einfluss der optischen Dichte und Färbezeit untersucht. Auch bei erhöhter Farbstoffkonzentration zeigte sich, dass hohe optische Dichten die Farbstoffaufnahme durch *P. carotovorum* begünstigen. So waren mehr als 95% der Zellen in der Lage cFDA aufzunehmen und zu cF umzuwandeln, wenn die Bakteriensuspension eine optische Dichte \geq 5 hatte und die Färbezeit zwischen 15 und 45 min lag. Eine weitere Verlängerung der Färbezeit führte wieder zu einer Zunahme der ungefärbten Zellen sowie zu einem Anstieg der PI-gefärbten Zellen (= permeabilisierte Zellen) (Abb. 12).



Abb. 12: Einfluss der Färbezeit (15 - 60 min) und der optischen Dichte (OD₆₂₀ 0,5 - 10) auf die Farbstoffaufnahme durch *P. carotovorum* bei einer Farbstoffkonzentration von 0,83 mM cFDA. Schwarze Balken repräsentieren ungefärbte Zellen, dunkelgraue Balken stehen für eine PI-Färbung (permeabilisierte Zellen), hellgraue Balken repräsentieren cF+PI-Färbung (leicht permeabilisierte Zel-

len mit Esteraseaktivität) und weiße Balken stehen für cF-Färbung (intakte Zellen mit Esteraseaktivität).

Daraus lässt sich schließen, dass hohe Farbstoffkonzentrationen in Verbindung mit Färbezeiten über 45 min einen negativen Einfluss auf die Bakterien haben. Eine weitere Erklärung für die verringerte cF-Färbung kann der passive oder aktive Ausschluss des Farbstoffes durch die Bakterien sein oder es erfolgt ein durch hohe Farbstoffkonzentrationen bedingtes Fluoreszenzquenching (Breeuwer *et al.* 1995). Obwohl bei Färbezeiten zwischen 15 und 45 min der Anteil an cF-gefärbten Zellen bei über 95% lag, war die cF-Färbung nach 45 min am homogensten (Abb. 13). Breeuwer *et al.* (1995) beschreibt die cFDA-Aufnahme durch *Saccharomyces cerivisiae* als langsamen Diffusionsprozess und eine Sättigung durch hohe Farbstoffkonzentrationen erfolgt nicht, d.h. hohe Farbstoffkonzentrationen führen zu einer erhöhten Aufnahmerate. Für *P. carotovorum* wird ein vergleichbarer Transportmechanismus angenommen wie für *Saccharomyces cerevisiae*, und die homogenere cF-Färbung nach 45 min ist somit durch die langsame Aufnahmerate der Bakterienzellen zu erklären. Um eine Messung von überschüssigem Farbstoff zu vermeiden, wurde dieser in allen Versuchen nach der Inkubationszeit durch einen Zentrifugationsschritt entfernt.



Abb. 13: cF/PI-Färbung von *P. carotovorum* nach verschiedenen Inkubationszeiten. Falschfarbendarstellung der Fluoreszenzintensitäten (Höhenlinien) von Blau (niedrig) über Grün (mittel) bis Rot (hoch).

Die zelluläre Speicherung von umgewandeltem cF in *P. carotovorum* Zellen wurde ermittelt, indem die durchflusszytometrische Messung unmittelbar nach der Farbstoffinkubation (45 min; 0,83 mM cFDA) und Waschung durchgeführt wurde bzw. nach einer Wartezeit von 20 und 40 min (Abb. 14).



Abb. 14: Zeitabhängige Speicherung von umgewandeltem cF in *P. carotovorum* Zellen. Schwarze Balken repräsentieren ungefärbte Zellen, dunkelgraue Balken stehen für eine PI-Färbung (permeabilisierte Zellen), hellgraue Balken repräsentieren cF+PI-Färbung (leicht permeabilisierte Zellen mit Esteraseaktivität) und weiße Balken stehen für cF-Färbung (intakte Zellen mit Esteraseaktivität).

Nach einer Wartezeit von 40 min hatte sich der Anteil an ungefärbten Zellen von 1,6% (Messung direkt nach der Färbung) auf 14,3% erhöht. Dies ist mit passivem Ausschluss oder auch durch Ausschluss mittels aktiver Membranpumpen zu erklären (Nebe-von-Caron *et al.* 2000). Da der aktive Ausschluss aber ein energieabhängiger Prozess ist, den Zellen jedoch keine zusätzliche Energie zugeführt wurde, ist davon auszugehen, dass es sich hier um einen passiven Ausschlussprozess gehandelt hat. Die Ergebnisse zeigen also, dass die durchflusszytometrische Messung direkt im Anschluss an die Färbung durchgeführt werden sollte, um zuverlässige Aussagen über den Vitalitätszustand der Bakterien treffen zu können. Der Ablauf für eine optimale Färbung von *P. carotovorum* mit cFDA und PI ist der Abbildung 15 zu entnehmen.



Abb. 15: Empfohlener Ablauf der cFDA/PI-Färbung für P. carotovorum

Die Übertragbarkeit des entwickelten Färbeprotokolls auf andere Gram-negative Bakterien wurde am Beispiel von *E. coli* überprüft. Es konnte gezeigt werden, dass die Methode auch für andere Gram-negative Bakterien verwendet werden kann.

Der physiologische Zellstatus von Bakterien kann in verschiedene Stufen unterteilt werden (Bunthof 2002). Um die physiologische Fitness von Bakterien noch besser beurteilen zu können, wurde zusätzlich zur Membranintegrität und Esteraseaktivität die Pumpenaktivität und das Membranpotenzial der Bakterien mit Hilfe der Durchflusszytometrie untersucht. Die Pumpenaktivität der Zellen konnte mit Hilfe des cFDA ermittelt werden. Nach der Färbung mit cFDA mit der Umwandlung zu cF wurde den Bakterienzellen Energie in Form von Glucose zugegeben. Nach einer Inkubationszeit von 60 min bei 37°C wurde die cF-Fluoreszenzintensität der Bakterien erneut in der Durchflusszytometrie gemessen und mit der cF-Fluoreszenzintensität vor der Glucosezugabe verglichen. Eine Verringerung der cF-fluoreszenzintensität deutet auf einen aktiven Farbstoffausschluss durch die Zellen hin (Abb. 16).



Abb. 16: Pumpenaktivität von E. coli ermittelt durch den Ausschluss von cF nach Glucosezugabe

Ein weiterer Parameter der physiologischen Fitness von Bakterien ist das Membranpotenzial. Zur Ermittlung des Membranpotenzials wurde der Farbstoff $DiOC_2(3)$ verwendet und das von Novo et al. (1999)entwickelte Protokoll zur radiometrischen Messung des Membranpotenzials leicht modifiziert. Der Farbstoff dringt in die Zellen ein und wird in der Zelle bei vorhandenem Membranpotenzial angereichert. Aufgrund der Anreicherung des Farbstoffes wird nach Anregung im grünen Wellenlängenbereich auch Fluoreszenz im roten Wellenlängenbereich emittiert. Dabei ist die Intensität der roten Fluoreszenz höher als die Intensität der grünen Fluoreszenz (Abb. 17).



Abb. 17: Rote und grüne DiOC₂(3)-Fluoreszenz von unbehandelten Bakterien (rot, hellgrün) und depolarisierten Zellen (orange, dunkelgrün)

Durch Bildung des Verhältnisses von roter zu grüner Fluoreszenz bekommt man einen relativen Wert für das Membranpotenzial von Bakterien, welcher ≤ 1 für depolarisierte Zellen (kein Membranpotenzial vorhanden) ist.

Die mikrobiologischen Analysen von Möhren und Spinatwaschwasser haben gezeigt, dass die vorhandene Bakterienkontamination allein durch die Wäsche nicht reduziert werden kann. Um ein Verderben der Frischeprodukte und damit verbundene finanzielle Verluste zu vermeiden und die Gefahr von Lebensmittel bedingten Erkrankungen auszuschließen, sind zusätzliche Schritte zur Dekontamination von Frischeprodukten notwendig. Der Verfahrenserfolg dieser Dekontaminationsprozesse muss innerhalb kürzester Zeit überprüft werden. Die Lebend-/Tot-Verhältnisse ausgewählter Bakterien wurden daher nach verschiedenen thermischen und nicht-thermischen Behandlungsverfahren mit Hilfe der Durchflusszytometrie bestimmt. Dabei wurden die erprobten und etablierten Färbeprotokolle verwendet, um die physiologische Fitness der Bakterien vor und nach einer Behandlung zu ermitteln (Abb. 18).



Abb. 18: Verwendete Farbstoffe und ihre Angriffspunkte in der Bakterienzelle zur Ermittlung der physiologischen Fitness von Bakterien nach verschiedenen Hygienisierungsschritten.

Es konnte gezeigt werden, dass die thermische Behandlung bei 70°C nach einer Minute zu einem Verlust der Membranintegrität bei etwa 80% der Zellen führt. Die Behandlung von *E. coli* mit ozontem Wasser ($c(O_3) = 2,8$ mg/l) führt ebenfalls zu einem Verlust der Membranintegrität und ein hoher Anteil (~ 40%) an Zellen konnte nach einer einminütigen Behandlung nicht gefärbt werden. Dies kann ein Indiz für eine Zelllyse oder für eine DNA-Schädigung sein. Nach einer einminütigen 0,25%igen Peressigsäurebehandlung sind noch über 50% der Zellen intakt (Abb. 19).



Abb. 19: Membranintegrität von *E. coli* nach thermischer Behandlung bei 70°C (A), Behandlung mit ozontem Wasser (B; 2,8 mg/l Ozon) und Behandlung mit Peressigsäure (C; 0,25% Peressigsäure, 10°C). Schwarze Balken repräsentieren ungefärbte Zellen, dunkelgraue Balken stehen für eine PI-Färbung (permeabilisierte Zellen), hellgraue Balken repräsentieren TO+PI-Färbung (leicht permeabilisierte Zellen) und weiße Balken stehen für TO-Färbung (intakte Zellen).

Nach einminütiger thermischer Behandlung zeigten etwa 10% der Zellen noch eine Esteraseaktivität, aber auch eine leichte Zellpermeabilisierung. Ähnliche Ergebnisse wurden für eine einminütige Ozonbehandlung detektiert, während nach der Peressigsäurebehandlung ~ 80% der Zellen Esteraseaktivität bei leicht permeabilisierter Zellmembran zeigten (Abb. 20).



Abb. 20: Esteraseaktivität und Membranintegrität von *E. coli* nach thermischer Behandlung bei 70°C (A), Behandlung mit ozontem Wasser (B; 2,8 mg/l Ozon) und Behandlung mit Peressigsäure (C; 0,25% Peressigsäure, 10°C). Schwarze Balken repräsentieren ungefärbte Zellen, dunkelgraue Balken stehen für eine PI-Färbung (permeabilisierte Zellen), hellgraue Balken repräsentieren cF+PI-Färbung (leicht permeabilisierte Zellen mit Esteraseaktivität) und weiße Balken stehen für cF-Färbung (intakte Zellen mit Esteraseaktivität).

Die Pumpenaktivität der Bakterien wurde durch die Dekontaminationsprozesse zerstört. Nach einer thermischen Behandlung und der Ozonbehandlung waren die Zellen bereits nach kürzester Behandlungszeit nicht mehr in der Lage das cF aus den Zellen auszuschleusen bzw. sie konnten den Farbstoff gar nicht erst umwandeln. Im Gegensatz dazu haben die Bakterienzellen ihre Pumpenaktivität erst nach einer 1,5 minütigen Peressigsäurebehandlung verloren (Abb. 21).



Abb. 21: Pumpenaktivität von *E. coli* nach thermischer Behandlung bei 70°C (A), Behandlung mit ozontem Wasser (B; 2,8 mg/l Ozon) und Behandlung mit Peressigsäure (C; 0,25% Peressigsäure, 10°C) gemessen an der Fähigkeit nach Energiezugabe cF auszuschleusen.

Das Membranpotenzial der Bakterien wird als erstes durch die thermische und nichtthermische Behandlung angegriffen. So war das Verhältnis von roter zu grüner $DiOC_2(3)$ -Fluoreszenz nach allen Behandlungsarten ≤ 1 (Abb. 22). Dies deutet darauf hin, dass die Zellen sofort durch die Behandlungen depolarisiert werden.



Abb. 22: Membranpotenzial von *E. coli* nach thermischer Behandlung bei 70°C (A), Behandlung mit ozontem Wasser (B; 2,8 mg/l Ozon) und Behandlung mit Peressigsäure (C; 0,25% Peressigsäure, 10°C) gemessen als Verhältnis von roter zu grüner DiOC₂(3)-Fluoreszenz.

Es konnte deutlich gezeigt werden, dass die Durchflusszytometrie geeignet ist, den Inaktivierungserfolg von Dekontaminationsprozessen innerhalb kurzer Zeit zu bestimmen. Darüber hinaus ist es mit der Durchflusszytometrie möglich, Informationen über den Schädigungsmechanismus zu erhalten. Dies ermöglicht eine gezielte Überwachung und Optimierung von Hygienisierungsprozessen.

Entwicklung von qualitativen Nachweisverfahren mittels konventioneller PCR für die determinierten Verderberreger

Zur Entwicklung eines gattungsspezifischen Assays für *Arcobacter* sp. und *Pectobacterium* sp. mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) wurden die Sequenzen verschiedener Gene auf ihre Verwendbarkeit zur Ableitung von Primern geprüft. Die Primer sollten möglichst alle Arten einer Gattung umfassen, Arten anderer Bakteriengattungen aber ausschließen.

Entwicklung eines qualitativen PCR-Assays spezifisch für Arcobacter sp.

Eines der wenigen publizierten Assays (Houf *et al.* 2000) zur Detektion und Unterscheidung von *Arcobacter*-Arten ist ein Multiplex-PCR-Assay, welches eine Unterscheidung zwischen *Arcobacter butzleri*, *Arcobacter cryaerophilus* und *Arcobacter skirrowii* ermöglicht. Es wurde in verschiedenen anderen Arbeiten genutzt, um *Arcobacter* ssp. in verschiedenen Habitaten zu detektieren (Fera *et al.* 2004; Gonzalez *et al.* 2007).

Seit dem Publikationsdatum des Assays wurden jedoch eine Reihe weiterer Arcobacter Arten neu beschrieben, so dass vor einer weiteren Anwendung der Primer geprüft werden musste, ob diese Kreuzamplifikationen mit anderen Arcobacter Arten zeigten. In entsprechenden Versuchen konnte nachgewiesen werden, dass die Primer spezifisch für A. skirrowii auch an dem 16S rRNA Gen von A. nitrofigilis binden und daher keine eindeutige Artidentifizierung zulassen (Abb. 23). Ein in silico Abgleich der Primer mit den in dieser Studie in Waschanlagen detektierten 16S rRNA Gensequenzen für Arcobacter zeigte zudem, dass die Primer von Houf *et al.* (2000) nicht geeignet sind, die in der Waschstrecke auftretenden Arcobacter Arten zu detektieren.



Abb. 23: Test der Primer aus dem Multiplex-PCR-Assay nach Houf *et al.* (2000). Eingesetzt wurde genomische DNA von *A. nitrofigilis* und *A. skirrowii*. BUTZ, SKIR, CRY= Primer spezifisch für *A. butzleri, A. skirrowii* und *A. cryaerophilus*. Der Primer für *A. skirrowii* (SKIR) bindet auch an DNA von *A. nitrofigilis* und erzeugt in der PCR ein Amplifikat von ca. 600 bp.

Da trotz intensiver Literaturrecherche keine besser geeigneten Primerkombinationen gefunden wurden, wurden neue Primer aus den verfügbaren Sequenzen entwickelt und getestet. Ziel war einerseits die Entwicklung eines gattungsspezifischen Assays, welches alle Arcobacter Arten gleichermaßen detektieren sollte, andererseits die Entwicklung eines Multiplex-Assays, welches in Lage sein sollte, alle zum Zeitpunkt der Studie bekannten Arcobacter Arten anhand der Länge des PCR-Produktes zu identifizieren.

Für die Gattung *Arcobacter* sind im Unterschied zu anderen Bakteriengattungen nur vergleichsweise wenige DNA-Sequenzen in der NCBI-Genbank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) hinterlegt. Im Wesentlichen umfasst das verfügbare Datenbankmaterial das vollständig sequenzierte Genom von *A. butzleri* sowie verschiedene, meist partielle Sequenzen von einzelnen Genen verschie*dener Arcobacter* Arten. Die DNA-Sequenz für das taxonomische "Standard-"Gen, des Gens für die 16S rRNA (=16S rDNA), wurde für alle bekannten *Arcobacter*-Arten bereits ermittelt und ist in der NCBI-Genbank hinterlegt. Weitere, für eine taxonomische Differenzierung nutzbare Gensequenzen sind nur für einzelne Arten bekannt (Tab. 5), so dass alle PCR-Assays auf Basis der 16S rRNA Gensequenz entwickelt wurden.

	16S rRNA Gen	rpoB	gyrA	flaA, flaB	23S rRNA Gen	hsp60
Arcobacter butzleri	+	+	+	+	+	+
Arcobacter cibarius	+	+	+	+	-	+
Arcobacter cryaerophilus	+	+	+	+	+	+
Arcobacter halophilus	+	+	+	-	-	+
Arcobacter marinus	+	-	+	-	-	-
Arcobacter mytili	+	+	-	-	-	+
Arcobacter nitrofigilis	+	+	+	+	+	+
Arcobacter skirrowii	+	+	+	+	+	+
Arcobacter thereius	+	-	-	-	+	+
Arcobacter trophiarum	+	-	-	-	+	+
Arcobacter sp. (diese Studie)	+	+	-	-	-	-

Tab. 5: Übersicht über die derzeit am häufigsten zur Ableitung von PCR-Primern genutzten DNA-Regionen für *Arcobacter*

Die entsprechenden Arbeiten wurden 2008 durchgeführt. Seitdem wurden verschiedene neue Arcobacter-Arten und deren 16S rRNA Sequenzen beschrieben, so Arcobacter marinus (Kim et al. 2010), Arcobacter thereius (Houf et al. 2009), Arcobacter mytili (Collado et al. 2009) and Arcobacter trophiarum (De Smet et al. 2010). Diese Informationen waren zum Zeitpunkt der Primerentwicklung nicht publiziert und daher nicht bekannt und wurden folglich nicht für zur Entwicklung der Assays genutzt.

1	00	110	120		380	390		420	430	440	
						.	.			.	
#24	0 CGMAC	GGGTGAGTAA	TRTATMG	#316	TGGACGAA	AGTCTGA <i>G</i> G	#Ta	q CACATTT	-CGGTGCG	TAAACTCCTTTTA	C
Arcobacter butzerli [NC009850]	GGCGCAC	GGGTGAGTAAT	GTATAGGTA	AT	ATGGACGAA	AGTCTGATGCA	(GACACATTT-	-CGGTGCG	TAAACTCCTTTTAT	
Arcobacter cibarius [AJ607391]	GGCGCAC	GGGTGAGTAAT	IGTATAGGTA	AT	ATGGACGAA	AGTCTGATGCA	(GACACATTT-	-CGGTGCG	FAAACTCCTTTTAT	
Arcobacter cryaerophilus [AY314755]] GG <mark>CGCAC</mark>	GGGTGAGTAAT	IGTATAGGTA	AT	ATGGACGAA	AGTCTGATGCA	(GACACATTT-	-CGGTGCG	FAAACTCCTTTTAT	
Arcobacter halophilus [AF513455]	GGCGCAC	GGGTGAGTAAT	TATATAGGTA	AC	ATGGGGGAA	ACCCTGATGCA	(GACACATTT-	-CGGTGCG	FAAACTCCTTTTAT	
Arcobacter marinus [EU512920]	GGCGCAC	GGGTGAGTAAT	TATATAGGTA	AC	ATGGGGGAA	ACCCTGATGCA	(GACACATTT-	-CGGTGCG	FAAACTCCTTTTAT	
Arcobacter mytili [FJ156092]	GG <mark>CGCAC</mark>	GGGTGAGTAAT	IGTATAGGTA	AC	ATGGGGGAA	ACCCTGATGCA	(GACACATTT-	-CGGTGCG	FAAACTCCTTTTAT	
Arcobacter nitrofigilis [L14627]	GG <mark>CGCAC</mark>	GGGTGAGTNAT	TATATAGGTA	AC	ATGGACGAA	AGTCTGATGCA	(GACACATTT-	-CGGTGCG	TAAACTCCTTTTAT	
Arcobacter thereius [AY314753]	GG <mark>CGCAC</mark>	GGGTGAGTAAI	GTATAGGTA	AT	ATGGACGGA	AGTCTGATGCA	(GACACATTT-	-CGGTGCG	TAAACTCCTTTTAT	
Arcobacter trophiarum [FN650333]	GG <mark>CGCAC</mark>	GGGTGAGTAAI	GTATAGGTA	AT	ATGGACGGA	AGTCTGATGCA	(GACACATTT-	-CGGTGCG	TAAACTCCTTTTAT	
Arcobacter skirrowii [L14625]	GGCGCAC	GGG <mark>T</mark> GAG <mark>T</mark> AA1	GTATAGGTA	AT	ATGGACGAA	AGTCTGATGCA	(GACACATTT-	-CGGTGCG	TAAACTCCTTTTAT	
ATB-LH-5950-FL	GG <mark>CGCAC</mark>	GGGTGAGTAAT	TATATAGTTA	AC	ATGGACGAA	AGTCTGATGCA	(GACACATTT-	-CGGTGCG	FAAACTCCTTTTAT	
ATB-LH-5962-FL	GG <mark>CGCAC</mark>	GGGTGAGTAAI	TATATAGATA	AC	ATGGACGAA	AGTCTGATGCA	(GACACATTT-	-CGGTGCG	TAAACTCCTTTTAT	
ATB-LH-6148-FL	GG <mark>CGCAC</mark>	GGGTGAGTAAT	TATATAGTTA	AC	ATGGACGAA	AGTCTGATGCA	(GACACATTT-	-CGGTGCG	FAAACTCCTTTTAT	
Campylobacter jejuni [CP001876]	CGCAC	GGGTGAGTAAG	GTATAGTTA	AT	ATGGGGGAA	ACCCTGACGCA	(GACACTTTT-	-CGGAGCG	TAAACTCCTTTTCT	
Campylobacter_fetus [GQ167674]	CGCAC	GGGTGAGTAAT	IGTATAGTTA	AT	ATGGGGGGAA	ACCCTGAAGCA	L (GACACTTTT-		FAAACTCCTTTTGT	
Acinetobacter_johnsonii [X81663]	GG <mark>CGGAC</mark>	GGGTGAGTAAT	IGCTTAGG-A	AT	ATGGGCGAA	AGCCTGATCCA	L (GAAGG <mark>CCTT</mark>	TTGGT-TG	TAAAGCACTTTAAG	
Acinetobacter_baumannii [FN563424]	GG <mark>CGGAC</mark>	GGGTGAGTAAT	IGCTTAGG-A	AT	ATGGGGGGA	ACCCTGATCCA	(GAAGG <mark>CCTT</mark>	ATGGT-TG	TAAAGCACTTTAAG	
10	040	1050		14	10 1	420 14	30				
	.					• • • • • • • • •	1				
#292	TGTCTGC	ITGCAGAAACT	TA #240	AGCGG	GGATGCTAA	RRTA					
Arcobacter butzerli [NC009850]	TGTCTGC	TTGCAGAAAC	TG TCGA	AGCGG	GGATGCTAA	AGTAG	с				
Arcobacter cibarius [AJ607391]	TGTCTGC	TTGCAGAAACT	TA TCGA	AGCGG	GGATGCTAA	AGTAG	<mark>с</mark>				
Arcobacter cryaerophilus [AY314755]] TGTCTGC	TTGCAGAAACT	TA TCGA	AGCGG	GGATGCTAA	AATAG	<mark>с</mark>				
Arcobacter halophilus [AF513455]	TGTCTGC	TTGCAGAAGC	TA TCGA	AGCGG	GGATGCTAA	GATAG	<mark>с</mark>				
Arcobacter marinus [EU512920]	TGTCTGC	TTGCAGAAACT	TA TCGA	AGCGG	GGATGCTAA	GATAG	<u>с</u>				
Arcobacter mytili [FJ156092]	TGCTAGC	TTGCTAGAAC	TTA TCGA	AGCAG	GGATGCTAA	GATAG	с				
Arcobacter nitrofigilis [L1462/]	TGTCTGC	TTGCAGAAACT	TTA TCGA		GGATGCTAA	AATAG	O				
Arcobacter thereius [AY314/53]	TGTCTGC	TTGCAGAAACT	TTA TCGA	A							
Arcobacter trophiarum [FN650333]	TGTCTGC	TTGCAGAAGC	"TA								
Arcobacter skirrowii [L14625]	TGTCTGC	TTGCAGAAAC	TTA TCGA	AGCGG	GGATGCTAA	AGTAG	С				
ATB-LH-5950-FL	TGTCTGC	TTGCAGAAAC	TTA TCGA	AGCGG	GGATGCTAA	AATAG	C				
ATB-LH-5962-FL	TGTCTGC	TTGCAGAAAC	TTA TCGA	AGCGG	GGATGCTAA	AATAG	C				
ATB-LH-6148-FL	TGTCTGC	TTGCAGAAAC	TTA TCGA	AGCGG	GGATGCTAA	AATAG	с				
CampyLobacter jejuni [CP001876]	TGCTAGC	TTGCTAGAAC	TTA TCGA	AGCCG	GAATACTAA	ACTA-					
Campylobacter_tetus [GQ167674]	TGCTAGC	TTGCTAGAAAG	FTT TCGA	AGTCG	GAATGCTAA	ACTA-					
Acinetobacter_johnsonii [X81663]	TGCC	-TTCGGGAACT	TTA CAGA	AGTAG	GTAGTCTAA	CCGCAAGGAGG	iA				
						OMOON N NON OO					

Abb. 24: Alignment von 16S rRNA-Sequenzen von *Arcobacter* sp., *Acinetobacter* sp. und *Camplyobacter* sp. mit den Positionen, an denen die Primer für die qualitativen (#240, #241) und quantitativen (#316, #292, TaqMan-Sonde) Assays abgeleitet wurden. Sequenzen, die im Rahmen dieser Studie bestimmt wurden, sind mit dem Zusatz ATB gekennzeichnet. Akzessionsnummern der NCBI-Genbank stehen in Klammern.



Abb. 25: Detektion von *Arcobacter* sp. mittels PCR in Möhren- und Spinatwaschwasserproben (Probennahmen Juni 2007 und Oktober 2007). (M) 1 kb DNA Längenstandard; (1) Möhrenwaschwasser; (2): Transportwasser; (3) - (5) Spinatwaschwasser aus Wäschetrommeln 1 - 3; (6) - (10) Spinatober-fläche: nach der Ernte, während der 1.,2. und 3. Wäsche, nach dem Blanchieren; (11) - (15) Spinatwaschwasser: Trinkwasser, aus Wäschetrommeln 1 - 3, Wasser aus dem Blancheur; (16) Negativkon-trolle ohne DNA; (17) Positivkontrolle, Verwendung eines unlinearisierten Plasmids mit dem 16S rRNA Gen von *Arcobacter nitrofigilis* als DNA-Template.

Die gattungsspezifischen Primer wurden von den 16S rRNA Gensequenzen abgeleitet (Abb. 24). Es wurden im Folgenden verschiedene Primerkombinationen getestet. Alle Primerkombinationen zeigten eine gute Spezifität für die jeweiligen *Arcobacter*-Arten.

Basierend auf den Voruntersuchungen wurde Primerkombination #240/#241 zum Screening von Proben aus der Waschstrecke von Möhren und Spinat verwendet (Abb. 25). Im Falle der Möhrenwäsche zeigte sich, dass *Arcobacter* in dem Waschwasser nachgewiesen werden konnte, aber nicht im Transportwasser, für welches frisches Trinkwasser verwendet wurde. Das Waschwasser jedoch wurde in der Waschanlage wiederverwendet und lediglich zu einem gewissen Teil mit frischem Trinkwasser gemischt. Hieraus ist zu schließen, dass an der Oberfläche ungewaschener Möhren *Arcobacter* anhaftet. In der Wäsche wird *Arcobacter* zur Gänze oder zumindest teilweise abgewaschen.

Neben einer Waschstrecke für Möhren wurde ebenfalls eine Waschstrecke für Spinat beprobt. Diese Anlage bestand aus drei in Reihe angeordneten Waschwannen, in welchen sich das Waschwasser befand. Durch das stehende Waschwasser wurde der Spinat auf Förderbändern geführt. Nach der Wäsche wurde der Spinat blanchiert, tiefgekühlt und verpackt.

Im Laufe dieser Studie wurden verschiedene Stellen der Anlage beprobt (Tab. 6). Es wurde ungewaschener Spinat vom Förderband nach der Anlieferung und kurz vor der ersten Waschwanne entnommen (S1), dann aus der ersten, zweiten, dritten Waschwanne (S2-S4) und "sauberer" Spinat vom Förderband nach dem Blanchieren auf dem Weg zur Tiefkühlung (S5). Parallel wurden Wasserproben entnommen aus der Frischwasserleitung (TW), aus der ersten, zweiten und dritten Waschwanne (WW1-WW3) und aus dem Überlauf des Blancheurs (BW). Des weiteren wurden bei einer Probennahme, als die Anlage außerhalb der Erntezeiten mehrere Monate trocken lag, Beläge von den Wänden der drei Waschwannen abgekratzt (B1-B3) und Restwasser, welches sich noch am Boden der zweiten und dritten Waschwannen (WW2 und WW3).

Bei der ersten Probennahme im Juni 2007 wurden ausschließlich die drei Waschwannen beprobt. Das PCR-Assay zeigte, dass in der ersten Waschwanne kein *Arcobacter* detektierbar war, wohl aber in den nachfolgenden Wäschen. Dies deutet darauf hin, dass der Spinat noch nicht mit *Arcobacter* belastet war, als er in der Anlage ankam. In diesem Falle schien *Arcobacter* durch vorherige Wäschen oder durch die Besiedlung der Wanne mit *Arcobacter* vielmehr erst ab der zweiten Waschwanne aufzutreten.

Zur Überprüfung dieser Hypothese wurden im Rahmen einer zweiten Probennahme im Oktober 2007 neben Proben aus den Waschwannen auch Proben des Spinats genommen und zwar vor dem Waschen sowie nach jeder einzelnen Station bis zur Blanchierung. Weiterhin wurde das zugeführte Trinkwasser beprobt, welches in der Anlage auf den Spinat zwischen jeder Wäsche gespritzt wird. Je 5 g des Spinats wurden in einen Stomacher-Beutel gegeben und 45 ml Aqua dest. hinzugefügt. Anschließend wurde der Spinat 2 Minuten bei maximaler Geschwindigkeit gepaddelt, um die am Spinat anhaftenden Mikroorganismen abzulösen. Die Bakteriensuspensionen wurden abpipettiert und für die DNA-Isolationen verwendet. Die festen Bestandteile wurden verworfen.

In der PCR wurde der Befund aus der ersten Probennahme bestätigt. Auf dem Ernte frischen Spinat ließ sich keine Kontamination mit *Arcobacter* nachweisen. Ebenso wenig war *Arcobacter* in der ersten Waschwanne oder in dem zugeführten Trinkwasser detektierbar.

Erst nach der ersten Wäsche zeigte sich in den Proben von der Oberfläche des Spinats ein schwaches Signal für die Anwesenheit für *Arcobacter*. Deutlichere Amplifikate wurden allerdings aus Proben der zweiten und dritten Waschwanne erzeugt, welches für die Anwesenheit von *Arcobacter* lediglich in diesen Waschschritten spricht. Eine Möglichkeit ist, dass *Arcobacter* diesen Bereich der Waschstrecke besiedelt hat. Auch wenn das verwendete Nachweisverfahren nur sehr bedingt quantitative Aussagen zulässt, so geben die Befunde doch auch ein Indiz dafür, dass mit *Arcobacter* belastetes Waschwasser zu einer stärkeren Belastung der Oberfläche des Waschguts beiträgt. Allerdings setzt sich die Kontamination nicht über die abschließende Blanchierung fort.

Die Ergebnisse zeigten, dass in einer Waschstrecke von Gemüse *Arcobacter* auftreten kann. Durch die wiederholte Probennahme konnte ebenfalls gezeigt werden, dass das Auftreten nicht nur sporadisch erfolgt, sondern dass vielmehr von einer dauerhaften Besiedelung trotz zwischenzeitlich stattfindender ordnungsgemäßer Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen ausgegangen werden muss. Die Ursache bzw. die Herkunft der *Arcobacter*-Kontamination ist jedoch noch offen.

Zur Absicherung des Befundes wurden verschiedene weitere Probennahmen durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tab. 6 dargestellt.

	•				
Probennahme	19.06.2007	30.10.2007	30.05.2008	16.07.2009	16.04.2010
тw	nb	-	-	+	nb
WW1	-	+	+	+	nb
WW2	+	+	+	+	+
WW3	+	+	+	+	-
BW	nb	-	+	+	nb
S1	nb	-	nb	+	nb
S2	nb	+	nb	+	nb
S3	nb	-	nb	+	nb
S4	nb	-	nb	+	nb
S5	nb	-	nb	+	nb
B1	nb	nb	nb	nb	-
B2	nb	nb	nb	nb	-
B3	nb	nb	nb	nb	-

Tab. 6: Ergebnisse des qualitativen Assays zur Detektion von *Arcobacter* ssp. mittels gattungsspezifischer Primer für das 16S rDNA-Gen. TW=Trinkwasserprobe, WW1-WW3=Proben aus Waschwannen 1-3, BW=Wasserprobe aus Blancheur, S1=ungewaschener Spinat, S2-S4=Spinat aus Waschwannen 1-3, S5=Spinat nach dem Blanchieren, B1-B3= trockene Ablagerungen aus Waschwanne 1-3, nb= nicht beprobt.

Dabei zeigte sich, dass unabhängig von der Saison stets *Arcobacter* DNA in der Anlage nachweisbar ist. So wurde *Arcobacter* in allen weiteren Proben außer den Trinkwasser- und den Blancheurproben detektiert.

Grundsätzlich wird die untersuchte Anlage alle zwei Tage desinfiziert. Dieses hat aber offensichtlich keinen Einfluss auf das Auftreten von *Arcobacter*. Die Anlage steht jedes Jahr zwischen Dezember und April saisonbedingt fast komplett trocken. In Proben verbleibender Wasserlachen (zweite und dritte Waschwanne) konnte jedoch ebenfalls noch *Arcobacter* DNA nachgewiesen werden, welches ein Indiz für eine gewisse Persistenz der Keime ist.

Es ist somit denkbar, dass *Arcobacter* hin und wieder in die Anlage eingeschleppt wird und dann die dortigen Oberflächen kolonisiert. Denkbar ist die Einschleppung mit kontaminiertem Waschgut, aber auch mit Trinkwasser. *Arcobacter butzleri* wurde in der Vergangenheit schon in verschiedenen Trinkwasserreservoiren und Oberflächengewässern in Deutschland sowie Amerika nachgewiesen (Jacob *et al.* 1993; Rice *et al.* 1999). Waschgut könnte eventuell durch Rückstände aus der Düngung kontaminiert sein. Im Falle von *Arcobacter* handelt es sich laut Literatur um verhältnismäßig robuste Mikroorganismen. So konnte gezeigt werden, dass *Arcobacter* in Kläranlagen den üblichen Klärprozess durchaus überlebt haben (Stampi *et al.* 1993; Stampi *et al.* 1999). Assanta *et al.* (2002) haben nachgewiesen, dass *Arcobacter* die Fähigkeit hat, sich an verschiedene Materialien wie z.B. Edelstahl anzulagern. *Arcobacter* verfügt somit über die zur Besiedlung einer Waschstrecke grundsätzlich erforder-lichen Eigenschaften.

Unabhängig davon, wie *Arcobacter* in die Anlage gelangen konnte, scheint er die Anlage zu kolonisieren, da der Nachweis in den Waschwannen und auf dem Spinat über Jahre hinweg relativ konstant blieb. Um nun genaueren Aufschluss über die in der Waschanlage vorkommenden *Arcobacter* Arten zu bekommen, wurden folgende Ansätze verfolgt: Zum Einen wurden aus dem Probenmaterial Isolate entsprechend der für *Arcobacter butzleri* beschriebenen Anreicherungs- und Kultivierungsprotokolle und -verfahren gewonnen (Houf *et al.* 2001), zum Anderen wurden als kultivierungsunabhängiger Ansatz Klonbibliotheken spezifisch für das 16S rDNA Gen von *Arcobacter* konstruiert und analysiert.

Aus dem Material verschiedener Beprobungen konnte mittels spezifischer Anreicherung und Selektivmedien wiederholt *Arcobacter butzleri* isoliert werden. Im Unterschied dazu konnte der auf Basis von DNA Analysen in der Waschstrecke nachgewiesene Stamm bislang weder mit dem üblichen Kultivierungsverfahren nach Houf *et al.* (2001) noch mit alternativen Selektivmedien isoliert werden.

Die Klonbibliotheken wurden spezifisch für *Arcobacter* bzw. dessen 16S rRNA Gen unter Verwendung der Primer #240/#241 erstellt, um die genetische Diversität und somit mehr Informationen über die in der Spinatwaschanlage (Probennahme Oktober 2007) vorkommenden *Arcobacter*-Arten zu erhalten. Nach dem Screening der Bibliothek und nachfolgender Sequenzierung ausgewählter Klone konnten Sequenzen für zwölf OTUs ermittelt werden. Eine phylogenetische Zuordnung dieser Sequenzen ergab für die überwiegende Mehrzahl keine Ähnlichkeit mit bekannten Arten. Nur zwei Sequenzgruppen zeigten so große Ähnlichkeiten zu *A. chryaerophilus*, einem bekannten Pathogen aus Geflügel, dass sie dieser Art zugeordnet werden konnten. Weitere Klonbibliotheken, die auf Grundlage der Probennahme von Juli 2009 erstellt wurden, bestätigten, dass auch *A. butzleri* in der Anlage vorkommt bzw. mit dem gewählten Ansatz nachweisbar ist.

Entwicklung eines qualitativen PCR-Assays spezifisch für Pectobacterium sp.

Als Modellmikroorganismus für ein phytopathogenes Bakterium wurde die Gattung *Pectobacterium* (vormals *Erwinia*) gewählt, da *Pectobacterium* ein Erreger von Pflanzenkrankheiten ist (Liao 2006). Eine intensive Literaturrecherche ergab, dass bislang keine PCR-Primer für den gattungsspezifischen Nachweis von *Pectobacterium* publiziert wurden. Eine *in silico* Analyse von in der NCBI Genbank hinterlegten Sequenzen des 16S rDNA Gens zeigte, dass die Ähnlichkeiten der DNA-Sequenzen innerhalb der Gruppe der *Enterobacteriaceae* zu groß sind, um ausreichend spezifische Primer abzuleiten. Brouwer *et al.* (2003) verwendeten daher zusätzlich zu dem 16S rDNA Gen eine Genregion abgeleitet aus Hybridisierungsexperimenten als Ziel für die PCR-Amplifikation (Primer AFP18 und AFP19). Der *in silico* Abgleich mit Sequenzen der NCBI Genbank ergab, dass die in jener Studie verwendeten Primer für das 16S rRNA Gen zu unspezifisch für eine Differenzierung von anderen Enterobacteriaceae sind. Das alternative Primerset AFP18/AFP19 konnte aufgrund der alternativen Zielregion nicht *in silico* getestet werden, sondern wurde experimentell auf eine genügende Spezifität hin geprüft (Abb. 26).



Abb. 26: Spezifität der Primer AFP18 und AFP19. M= Marker, NK=Negativkontrolle

Die Primerkombination AFP18/AFP19 zeigte eine hohe Spezifität zum Nachweis von DNA von *P. carotovorum carotovorum*. Hingegen wurden keine PCR-Produkte mit anderen *Pectobacterium* Arten amplifiziert, selbst nicht mit der zu der Subspezies *P. carotovorum carotovorum* eng verwandten Subspezies *P. carotovorum atrosepticum*.

Aufgrund dieser Ergebnisse wurden als alternative Zielgene zur Entwicklung neuer PCR-Primer das Gen für den Pathogenitätsfaktor Pectatlyase (*pelB*) sowie ein Gen des Grundstoffwechsels (*house-keeping gene*), das Gen für die Malat-Dehydrogenase (*mdh*) gewählt. Pectatlyasen sind Kohlenstoff-Sauerstoff-Lyasen, die Polysaccharide spalten. Sie kommen vor allem in Pflanzen vor und sind im Reich der Bakterien hauptsächlich bei *Pectobacterium* spp. und *Pseudomonas* spp. zu finden. Innerhalb der jeweiligen Gensequenzen treten genügend große Variationen auf, um eine Ableitung gattungsspezifischer Primer zu ermöglichen. Aufgrund der Variabilität dieser Gensequenz innerhalb der Gattung *Pectobacterium* konnten jedoch keine für alle bekannten Arten konservierten Genregionen ermittelt werden. Die abgeleiteten Primer sind daher zwar spezifisch für *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* und subsp. *atrosepticum* sowie für einen Großteil der bekannten Arten, jedoch nicht für alle (Abb. 27).



Abb. 27: Test der Spezifität des entwickelten pelB PCR-Assays

In Ergänzung zu dem *pel*B-Assay wurde ein PCR-Assay für das *mdh*-Gen von *Pectobacterium* entwickelt. Dieses zweite Assay zeigt ein ähnliches Spektrum an detektierten *Pectobacterium* Arten wie das *pel*B-Assay (Abb .28).



Abb. 28: Test der Spezifität des entwickelten mdh-PCR-Assays. M=Marker, NK=Negativkontrolle

Ein Test der Spezifität und die Kreuzamplifikationen wiesen nach, dass die entwickelte Primerkombination zufriedenstellend DNA von *Pectobacterium* sp. amplifiziert, aber nicht die DNA anderer Bakterienarten.

Tab. 7: Nachweis von *Pectobacterium carotovorum* in Spinat- und Waschwasserproben zweier Probennahmen mit je zwei verschiedenen qualitativen Primerassays. TW=Trinkwasserprobe, WW1-3=Proben aus Waschwannen 1-3, BW=Wasserprobe aus Blancheur, S1=ungewaschener Spinat, S2-4= Spinat aus Waschwannen 1-3, S5=Spinat nach dem Blanchieren.

Probennahme Juli 2009	тw	WW1	WW2	WW3	BW	S1	S2	S3	S4	S5
<i>pel</i> B-spezfisches Assay	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>mdh</i> -spezifisches Assay	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Probennahme November 2009										
<i>pel</i> B-spezfisches Assay	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>mdh</i> -spezifisches Assay	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-



Abb. 29: Qualitatives Assay zum Nachweis von *Pectobacterium carotovorum* in Spinat- und Waschwasserproben der Probennahme von Juli 2009. M= DNA-Längenstandard, WW1-3= Waschwasser aus Waschwannen 1-3, BW= Wasser aus Blancheur, TW= Trinkwasser, S1= ungewaschener Spinat, S2-4= Spinat aus Waschwannen 1-3, S5= Spinat nach Blanchieren, PK= Positivkontrollen mit gDNA von *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* und Plasmid-DNA mit *mdh*-Gen von *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*, NK=Negativkontrolle.

Die entwickelten Assays wurden verwendet, um Waschwasserproben aus der Spinatreinigung auf die Anwesenheit von *Pectobacterium* zu untersuchen (Probennahmen Juli 2009 und November 2009) (Tab. 7). Die Ergebnisse fielen bezüglich des Vorkommens von *Pectobacterium* spp. sehr unterschiedlich aus. In der Probennahme vom Juli 2009 war zumindest die DNA von Pectobacterien in jeder Probe außer dem Trinkwasser nachweisbar (Abb. 29). In der Probennahme vom November 2009 dagegen wurden keine Pectobacterien detektiert (Daten nicht gezeigt). Beide Assays, das *mdh*-Assay sowie das *pelB*-Assay, lieferten hier das gleiche Ergebnis. Dieses phasenweise Auftreten der Pectobacterien deutet daraufhin, dass einzelne Waschgutchargen an Spinat mit *Pectobacterium* sp. kontaminiert sind. Im Unterschied zu *Arcobacter* ist *Pectobacterium* jedoch nicht persistent und kann offensichtlich aus der Anlage auch wieder entfernt werden. Die Neutralisierung erfolgt möglicherweise durch die Desinfektion, die in regelmäßigen Abständen durchgeführt wird. Denkbar ist auch eine Auswaschung mit der Zeit.

Es fällt auf, dass Pectobacterien-DNA auch auf dem gewaschenen und blanchierten Spinat (S5) nachweisbar ist, der dann zur Tiefkühleinheit und zur Verpackung transportiert wird. Waschen und auch Blanchieren scheinen nicht auszureichen, um die Bakterien zu entfernen. Die hier angewendete Methode detektiert allerdings lediglich die DNA, gibt aber keinen Aufschluss darüber, ob die Bakterien noch lebensfähig sind.

Zur Unterstützung der molekularbiologischen Ergebnisse wurden Pectobacterien aus dem Waschwasser mit Hilfe des üblicherweise in anderen Studien verwendeten CVP-Selektivmediums isoliert. Dies war jedoch nur für die S4-Probe vom Juli 2009 erfolgreich. Damit wurden die Befunde des kulturunabhängigen Ansatzes (PCR-Assay) grundsätzlich bestätigt.

Entwicklung von quantitativen Nachweisverfahren mittels real-time PCR für die Modellorganismen

Zielsetzung bei der Entwicklung von quantitativen PCR-Assays war es, ein Verfahren zu etablieren mit Hilfe dessen zeitnah und spezifisch Pathogene in gemüseverarbeitenden Betrieben detektiert und ihre Anzahl bestimmt werden kann. Hierfür sollte für die Modellorganismen *Arcobacter* und *Pectobacterium* ein real-time-PCR-Assay mit TaqMan-Technologie (5'-Nuklease-Assay) entwickelt werden. Grundlage hierfür ist die Entwicklung spezifischer Primer und fluoreszenzmarkierter Oligonukleotidsonden.

Entwicklung eines quantitativen PCR-Assays spezifisch für Arcobacter sp.

Aus der Literatur ist bislang nur ein QPCR-Assay zum Nachweis von *Arcobacter* verfügbar. Brightwell *et al.* (2007) entwickelten ein Multiplex-QPCR zur Unterscheidung von *A. butzleri* (*rpo*B-Gen) und *A. cryaerophilus* (23S rDNA-Gen), mit welchem gute Standardkurven erzielt werden konnten. Nachteilig ist allerdings, dass das Assay nur auf den Sequenzen einiger weniger Arten basiert. Eine *in silico* Analyse zeigte zudem, dass die DNA der in dem Waschwasser detektierten *Arcobacter* Stämme teilweise eine Bindung der in diesem Assay verwendeten Primer erlaubt (Abb. 30). Das Assay von (Brightwell *et al.* 2007) ist folglich zu artspezifisch für ein gattungsspezifisches Assay, aber auch zu unspezifisch, um eine gezielte Detektion von *Arcobacter butzleri* zu ermöglichen, weil die Primer an manche DNA-Sequenzen der im Waschwasser vorkommenden *Arcobacter*-Stämme binden.

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
		1]]			
	TMBUTZFMM									
	AAAAAATACTTT	CTTGGTCTT	GTGGTGTA							
Arcobacter butzleri [CP000361]	AGAAAAAATACTTT	CTTGGTCTT	GTGGTGAAGT	TAAAAAACCT	GAAACAATTA	TTATAGAA	CATTAAAACC	GAGAGAGAT	GATTATTT	GTGCTAAA
Arcobacter nitrofigilis [CP001999]	AGAAAAAATTCTTT	CTTGGTCTT	GTGGAGAAGT	TAAAAAACCT	GAAACAATTA	ACTACAGAA	CATTAAAACCI	GAAAGAGAT	GTTTATTT	GTGCGAAA
Arcobacter skirrowii [AF136505]	AGAGAAAATTCTAT	CTTGGTCTT	GTGGAGAGGT	TAAAAAACCT	GAAACTATTA	CTATAGAA	CACTAAAACC	GAGAGAGAT	GACTGTTTT	GTGCAAAA
Arcobacter cryaerophilus [AF136503]	TGAAAAAATACTTT	CTTGGTCTT	GTGGTGAGGT	TAAAAAACCT	GAAA <mark>CT</mark> ATAAA	CTATAGAA	CACTAAAACC	GAAAGAGAT	GACTGTTTT	GTGCAAAA
ATB-LH-10513	TGAAAAAATATTAG	CTTGGTCTT	GTGGTGAAGT	AAAAAAACCT	GAAA <mark>CTATTA</mark>	CTATAGAA	CATTAAAACCA	GAAAGAGAT	GTTTATTT	GTGCGAAA
Campylobacter jejuni [NC_009839]	TGAAAAAATCAAAT	CATGGTCTT	ATGGAGAAGT	ААААААА <mark>СС</mark> А	GAAA <mark>CTATC</mark> AA	TTATAGAA	CCTTAAAGCCT	GAAAGAGAT	GGCTTTTTT	GTGCAAAG
_	110	120	130	140	150	160	170			
		1		.						
	TMBUTZ				TMBUTZR					
	TTGGACCAGT	AAAAGATTA	TGAGTGTCTT	TGTGGTAAA-	-САААААААТ	GAGATACAA	AGGTGTTGTT-			
Arcobacter butzleri [CP000361]	ATTTTTGGACCAGT	AAAAGA <mark>TT</mark> A	TGAGTGTCTT	TGTGGTAAAT	ACAAAAAGAT	GAGATACAA	AGGTGTTGTT	GTG		
Arcobacter nitrofigilis [CP001999]	ATTTTTGGACCAGT	AAAAGA <mark>TT</mark> A	TGAATGTCTT	TGTGGTAAAT	ACAAAAAA <mark>T</mark> (GAGATACAA	AGGTGTTGTT	GTG		
Arcobacter skirrowii [AF136505]	ATCTTTGGACCTGT	AAAAGA <mark>TT</mark> A	TGAGTGTCTA	TGTGGTAAAT	ATAAAAAGAT	GAGATACAA	AGGTGTTGTT	GCG		
Arcobacter cryaerophilus [AF136503]	ATCTTTGGACCAGT	AAAAGA <mark>TT</mark> A	TGAGTGTCTT	TGTGGTAAAT	ATAAAAAGAT	GAGATACAA	AGGTGTTGTT	GCG		
ATB-LH-10513	ATTTTTGGACCAGT	AAAAGA <mark>TT</mark> A	TGAATGTCTT	TGTGGTAAAT	ACAAAAAAT	GAGATACAA	AGGTGTTGTT	G		
Campylobacter jejuni [NC_009839]	ATTTTTGGACCTAT	AAGAGA <mark>TT</mark> A	TGAATGTCTT	TGTGGCAAGT.	ATAAAAAAT	CGTTTTAA	AGGTGTTAAGT	GCG		

Abb. 30: Alignment der Sequenzen relevant für die Konstruktion des TaqMan Assays spezifisch für *Arcobacter butzleri*. Genutzt wurde die Sequenzen des rpoB-Gens. Primersequenzen stehen in der obersten Zeile über dem Alignment. Akzessionsnummern der Sequenzen stehen in Klammern. Sequenzen, die im Rahmen dieser Studie ermittelt wurden, sind mit ATB gekennzeichnet.

Aufgrund der Limitierung dieses einzigen bekannten QPCR Assays wurden Arbeiten zur Ableitung einer alternativen Primer/Sonden-Kombination auf Basis der 16S rRNA Gensequenz durchgeführt. Die Nutzung des bereits entwickelten qualitativen Assays war nicht möglich, da die Amplikonlänge grundsätzlich ungeeignet für QPCR-Anwendungen ist und zudem zwischen den verwendeten Primern kein konservierter Bereich zur Ableitung einer Sonde vorliegt. Daher wurde ein alternativer Bereich des 16S rRNA Gens ausgewählt und eine entsprechende Primer/Sonden-Kombination *in silico* abgeleitet.

21226 hn	Μ		# 2	40 + •	F			#3	16 +	-			# 3′	18 + •				#2	91 - 1	÷		1	<i>‡</i> 24	2+	1	١K
<u>3530 bp</u>	Η	: 245	317	292	: 243	241	245	317	292	243	241	245	317	292	243	241	245	317	292	243	241]	245	292	243	241	
<u>1375 bp</u> 947 bp	Ξ	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	
<u>564 bp</u>	-			-										-'			ľ		- '	-		-	_	-		
			-																							
	Arc	oba	icte	r sp).																					
		+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
21226 hr	М		#2	40 -	+			#3	816 -	F			#3	18 +				#2	91 -	+			# 24	2 +		NK
<u>21226 bp</u> <u>3530 bp</u>	M	245]	317 #	40 - 267 - 52	243 +	241]	245]	317 #	592 - 16 592 - 16	243 +	241	245	317 E	18 + 565 -	243	241]	245	317 #	595 - 19	243 +	241]	245	# 24 567	243 + 5	241	NK
21226 bp 3530 bp 1375 bp	M	# 245]	# 317 #	40 - 767 #	# 243 +	# 241]	# 245]	# 317 #	# 265 - 16	# 243	# 241	# 245	# 317 #	18 + # 265 +	# 243	# 241]	# 245	# 317 #	# 205 - 99 # 205	# 243 +	# 241]	# 2457	# 24 767 #	# 243 5 7	# 241	NK
21226 bp 3530 bp 1375 bp 947 bp 564 bp		# 245]	# 317 # 317	# 567 5	# 243 +	# 241	# 245	# 317 #	# 292 - 10	# 243	# 241	# 245	# 317 #	# 565 + +	# 243	# 241J	# 245	# 317 #	# 202 - 6	# 243 +	# 241	# 245	# 24	# 243 7 5	# 241	NK
21226 bp 3530 bp 1375 bp 947 bp 564 bp		# 245	# 317 #	# 292 - 5	# 243 +	# 241	# 245]	# 317 #	# 292 - 10	# 243	# 241	# 245	# 317 #	18 + 567 + 8	# 243	# 241]	# 245	# 317 #	# 292 - 6	# 243 +	# 241	# 2457	# 24	# 243 7 2	# 241]	NK
21226 bp 3530 bp 1375 bp 947 bp 564 bp		# 245	# 317 #	# 292 - 5	# 243 +	# 241	# 245	# 317 #	# 292 - 10	# 243	# 241	# 245	# 317 #	+ # 292 - 8	# 243	# 241	# 245	# 317 #	# 292 - 6	# 243 +	# 241	# 245	# 267 #	# 243 7 5	# 241	NK

Abb. 31: Verschiedene Primerkombinationen spezifisch für das 16S rRNA Gen von *Arcobacter* sp. und die entstehenden Kreuzamplifikationen mit der DNA von *Acinetobacter* sp. Pfeile heben schwache Banden hervor.

Ein experimenteller Test der Primer zeigte jedoch, dass es bei vielen Primern zu Kreuzamplifikationen mit genomischer DNA von Vertretern der Gattung *Acinetobacter* kam (Abb. 31). Um diese Kreuzamplifikationen zu vermeiden, wurde bei einem Vorwärtsprimer für die QPCR an der vorletzten Stelle des 3'-Endes ein Nukleotid ausgetauscht, so dass ein Mismatch an dieser Stelle entstand. Durch diesen Mismatch wurde die Wirkung des einzelnen Nukleotidaustausches an der letzten Position am 3'-Ende zwischen den *Arcobacter* und *Acinetobacter*-Sequenzen verstärkt. Der solchermaßen modifizierte Primer zeigte im experimentellen Test keine Kreuzampliflikationen (Abb. 31) mit DNA von *Acinetobacter* mehr.

Erst Versuche zur Etablierung eines QPCR-Assays wurden unter Verwendung eines Plasmids rekombiniert mit 16S rDNA von *A. nitrofigilis* als Template durchgeführt. Trotz Optimierung der Reaktionsbedingungen ergab sich allerdings eine verzögerte, unnormale Amplifikation und insgesamt eine schlechte Effizienz der PCR. Ursache hierfür ist wahrscheinlich der in dem Vorwärtsprimer eingebaute Mismatch.

Aufgrund der Ergebnisse erscheint es unwahrscheinlich, dass ein QPCR Assay nach dem 5'-Nuklease-Prinzip für den pauschalen Nachweis von *Arcobacter* entwickelt werden kann. Für zukünftige Forschungsansätze wird daher empfohlen, ausschließlich konventionelle PCR-Assays, wie in dieser Studie etabliert, zu QPCR-Assays auf Basis einer SYBR-Green-Färbung zu transferieren.

Entwicklung eines quantitativen PCR-Assays spezifisch für Pectobacterium sp.

Notwendige Vorbedingung für die Entwicklung eines quantitativen PCR-Assays spezifisch für Mikroorganismen der Gattung *Pectobacterium* ist wie für das *Arcobacter* Assay auch die Verfügbarkeit einer geeigneten Primer/Sonden-Kombination. Das in dieser Studie entwickelte qualitative Primer-Assay zum Nachweis des *pel*B-Gens für die Pectatlyase konnte für ein TaqMan-QPCR Assay nicht verwendet werden, da das Amplikon mit 480 bp eine ungünstige Länge für QPCR-Anwendungen besitzt.

Stattdessen wurde das QPCR-Assay auf Basis des *mdh* Gens (kodierend für die Malatdehydrogenase) entwickelt. Die hierfür in dieser Studie entwickelten Primer waren hinsichtlich der Spezifität und Amplikonlänge problemlos übertragbar. Dieses Zielgen hat zudem den Vorteil, dass es nur in einer einzelnen Kopie im Genom vorhanden ist. Dadurch wird es möglich, von der detektierten Genkopienzahl direkt auf die Zellzahl zu schließen. Als Ergebnis der *in silico* durchgeführten Sequenzvergleiche sowie der im Rahmen der Entwicklung des quantitativen *Arcobacter* Assays gemachten Erfahrungen wurde auf die Ableitung einer Taqman-Sonde verzichtet. Das Assay wurde vielmehr als SybrGreen-Assay etabliert. (SybrGreen ist ein interkalierender, grün-fluoreszierender Farbstoff, der sich an die Doppelhelix von DNA anlagert.)

Der Test einer Standardreihe (= Plasmide mit *mdh*-Insert in bekannter Kopienzahl) zeigte eine gute Eignung der Primer für eine Qantifizierung der Kopienzahl und einen linearen Zusammenhang zwischen der als Template eingesetzten Anzahl DNA-Kopien und dem Schwellenwert der Amplifikation (ct-Wert) (Abb. 32A). Im Anschluss an die QPCR mit SybrGreen wurde eine Schmelzkurvenanalyse durchgeführt, um erkennen zu können, ob unspezifische Fragmente entstehen (Abb. 32B). Die Schmelzkurve zeigte, dass nur ein Fragment entsteht und die Primer keine Dimere bilden, d.h. keine Primer-Primer-Interaktion auftritt.



Abb. 32: Etablierung der *mdh*-QPCR für *Pectobacterium* sp. (A) Standardreihe mit Plasmid-DNA (10¹- 10⁹ Kopien des *mdh*-Gens, jeweils in Triplikaten gemessen), (B) Schmelzkurvenanalyse der erzeugten Amplifikate. Als Grenzwert zur Bestimmung des Ct-Wertes wurde 0,3 gewählt.

Eine erneute Untersuchung der Waschwasser- und Spinatproben (Probennahme Juli und November 2009) führte zu einem ähnlichen Ergebnis wie die zuvor durchgeführte Analyse mit dem qualitativen PCR-Assay. In der Probennahme von November 2009 wurde keine DNA von Pectobacterien detektiert (Daten nicht gezeigt). In den Proben vom Juli 2009 konnten in allen Proben außer im Trinkwasser und im Spinat nach dem Blanchieren Pectobacterien-DNA nachgewiesen werden (Abb. 33).

Bei der Bewertung der Ergebnisse ist zu berücksichtigen, dass für manche Proben ein zu geringer Anteil an mikrobieller Biomasse und damit an isolierter DNA vorhanden war, um eine zuverlässige QPCR zu gewährleisten (Spinat nach dem Blanchieren, Trinkwasser). An-

dererseits bedeutet dieses natürlich auch zugleich eine extrem niedrige Keimbelastung. Das Probenmaterial aus der zweiten Waschwanne konnte leider nicht erneut getestet werden, weil zu wenig Material aus der ersten Analyse übrig geblieben war.

Die QPCR-Analyse zeigte, dass auf dem ungewaschenen Spinat bereits eine geringe Zahl von Pectobacterien nachweisbar ist, deren Anzahl aber durch die erste Wäsche halbiert wurde. Auch im Waschwasser der ersten Waschwanne waren nur vergleichsweise wenige Pectobacterien enthalten. Jedoch nahm die Anzahl der Pectobacterien mit jeder Wäsche zu, bis letztendlich im Blancheur der höchste Wert gemessen wurde. Parallel zu dem Gehalt von Pectobacterien im Waschwasser nahm auch die Belastung der Spinatproben mit Pectobacterien mit jedem Waschschritt zu.

Mit der Q-PCR-Analyse wurden die Ergebnisse der qualitativen PCR bestätigt. Die Befunde lassen grundsätzlich auf zwei mögliche Prozesse schließen: (1) Pectobacterien werden mit dem Erntegut in die Waschstrecke eingeführt und während der Waschstrecke sukzessive vom Erntegut entfernt. Die maximale Abtrennung erfolgt im Zuge der Blanchierung. Die Detektion von mehr *Pectobacterium* DNA nach der Blanchierung ist auf die Abtötung und Lyse der nach dem Waschen verbliebenen Zellen zurückzuführen. (2) *Pectobacterium* besiedelt einzelne Waschstufen und wird durch kontaminiertes Waschwasser auf dem Erntegut abgelagert. Dadurch steigt die Keimbelastung mit jeder Prozessstufe an, anstatt reduziert zu werden. Eine Klärung der gegensätzlichen Erklärungsmodelle kann allerdings nur durch zusätz-liche Arbeiten zur Bestimmung der Lebendkeimzahl von *Pectobacterium* erzielt werden.



Abb. 33: Bestimmung der Zellzahlen je ml Probe für *Pectobacterium* sp. basierend auf der der aus Waschwasser- und Spinatproben isolierten mikrobiellen genomischen DNA mittels des *mdh*-basierten QPCR-Assays (Probennahme Juli 2009). TW= Leitungswasser, WW1-3= Proben aus Waschwannen 1-3, BW= Wasserprobe aus Blancheur, S1= ungewaschener Spinat, S2-S4= Spinat aus Waschwanne 1-3, S5= Spinat nach dem Blanchieren.

Übertragung der oben entwickelten Ergebnisse zur Entwicklung von artspezifischen Fluoreszenzsonden für die Durchflusszytometrie und Entwicklung eines entsprechenden Protokolls

Im Rahmen dieses Vorhabens sollten neben PCR-basierten Ansätzen auch Verfahren zur zellbasierten Quantifizierung der Modellkeime mittels Durchflusszytometrie etabliert werden. Hierzu wurden fluoreszent markierte Oligonukleotid-Sonden für gattungsspezifische Regionen der ribosomalen 16S rRNA zum Nachweis von *Arcobacter* und *Pectob*acterium verwendet. Die Sonden wurden mittels Fluoreszenz *in-situ* Hybridisierung (FISH) und optischer Kontrolle via Fluoreszenz-Mikroskopie an Referenzstämmen getestet und auf ihre Eignung hin untersucht. Im zweiten Schritt wurde die Sonde dann mit einem alternativen Fluoreszenz-Farbstoff markiert und zur Markierung der Referenzzellen für die Durchflusszytometrie verwendet. Als Kontrolle erfolgte für jeden Ansatz eine parallele Färbung mit einem DNA-Farbstoff (DAPI) und die Hybridisierung mit einer zweiten, allerdings weniger spezifischen FISH-Sonde (EUB338) sowie die Färbung und Hybridisierung von einem zweiten Referenzstamm, *Escherichia coli* (Proteobacteria). Als Negativkontrolle wurde eine Nonsense-FISH-Sonde (NON338) verwendet.

Zum Nachweis von *Arcobacter* wurde eine FISH-Sonde aus der Literatur verwendet (Wesley *et al.* 1995). Um die Sonde zu testen, wurden zuerst klassische Protokolle aus der Literatur zur Hybridisierung angewandt. Im Ergebnis zeigte sich nur eine schwache Fluoreszenz, welche auf eine suboptimale Bindung der Sonde schließen lässt (Abb. 34). Entsprechend konnte auch in der Durchflusszytometrie nur eine geringe Fluoreszenz gemessen werden. Die Durchflusszytometrie ergab, dass nur ein minimaler Bruchteil der Zellen gefärbt war.



Abb. 34: *A. skirrowii* gefärbt mit DAPI (A) und der *Arcobacter*-spezifischen Sonde ARBA-Fluos (B) (Wesley *et al.* 1995)

In den mikroskopischen Analysen fiel auf, dass im Falle des Referenzstammes von *Arcobacter* sämtliche durchgeführten Färbungen bzw. Hybridisierungen schwächere Fluoreszenzsignale ergaben als die Kontrollfärbungen und -hybridisierungen von *E. coli*. Grund hierfür könnte sein, dass unter Umständen die Experimente nicht zur optimalen Wachstumsphase der *Arcobacter* Zellen durchgeführt wurden. Die Wachstumskinetik von *Arcobacter* ist allerdings nicht bekannt, da die Kultur von *Arcobacter* durch die besonderen Anforderungen und das sehr langsame Wachstum verglichen mit anderen Bakterien schwierig und langwierig ist.

Zur Entwicklung eines Hybridisierungsprotokolls wurde ein Protokoll von Wallner *et al.* (1993) durch Hinzufügen eines Dehydrierungsschrittes vor dem Hybridisierungsschritt verändert. Bei der Dehydrierung wird den Zellen Wasser entzogen durch sequenzielle Inkubation in 50%, 80% und 96% Ethanol. Nach anschließender Zugabe der Sonde in wässriger Lösung wird Wasser von den Zellen aufgenommen.

Das optimierte Protokoll wurde an *E. coli* mit einer Cy3-markierten Universalsonde (EUB338) getestet. Als Negativkontrolle wurde eine ebenfalls Cy3-markierte Nicht-Sonde (NON338) verwendet, die nicht binden sollte. Die *E. coli* Zellen wurden zu 100% von der Universalsonde angefärbt und zu 0% von der Nicht-Sonde (Abb. 35). Das Hybridisierungprotokoll ist also erfolgreich optimiert worden und kann für weitere Experimente genutzt werden. In weiteren Experimenten sollte gezeigt werden, ob auch *Arcobacter* ssp. und *Pectobacterium* ssp. mit diesem Protokoll und den entsprechenden Sonden angefärbt werden können und ob die hybridisierten Zellen auch mittels Durchflusszytometrie detektiert werden können.



Abb. 35: Mikroskopischer Nachweis von *A. skirrowii* (A-C) und *E. coli* (D-F). (A, D) DAPI-Färbung, (B, E) EUB338-Cy3, (C, F) NON338-Cy3.

Zum Nachweis von Pectobacterien wurde der Primer AFP18 (spezifisch für ein Genfragment aus *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*) von Brouwer *et al.* (2003) getestet. Für diese Sonde konnte mit keinem Hybridisierungsprotokoll eine erfolgreiche Bindung und damit eine mikroskopisch sichtbare Fluoreszenz erzeugt werden (Daten nicht gezeigt). Im Gegensatz zu den meisten FISH-Sonden, die auf 16S rRNA-Gen basieren, handelte es sich bei dem molekularen Ziel um chromosomale d.h. doppelsträngige DNA. Die Ziel-DNA ist daher nicht so gut zugänglich für Oligonukleotidsonden wie ribosomale rRNA.

Dies bedeutet, dass das Hybridisierungsprotokoll um einen Denaturierungsschritt ergänzt werden muss, welcher die Ziel-DNA auftrennt und damit der Oligonukleotidsonde die Bindung ermöglicht. Die meisten Hybridisierungsprotokolle enthalten keinen Denaturierungsschritt, da als Sonden 16S rDNA-Gensonden verwendet werden.

Allerdings konnte auch mit einem zusätzlichen Denaturierungsschritt keine verbesserte Bindung der Sonde bzw. Fluoreszenz beobachtet werden. Als weitere Möglichkeit für ein Ausbleiben einer positiven Reaktion wird vermutet, dass die Ziel-DNA wahrscheinlich nur in einer einzelnen Kopie je Chromosom und Zelle vorliegt. Dies bedeutet, dass das Fluoreszenzsignal grundsätzlich deutlich schwächer ist als bei einer 16S rRNA spezifischen Sonde. Ribosomen und damit die rRNA liegen in hunderten bis tausenden Kopien in einer Zelle vor. Dies führt im Falle einer erfolgreichen Hybridisierung zu einem deutlich stärkeren Fluoreszenzsignal.

Entwicklung eines Fluidiksystems (HZB, ehemals BESSY)

Das HZB, ehemals BESSY, hatte im Projekt ProSenso.net² Arbeitsaufgaben übernommen, die seinen Fähigkeiten und seiner speziellen Ausstattung im Anwenderzentrum für Mikrotechnik entsprachen. Dabei lag der Hauptpunkt auf der Entwicklung und Realisierung des Fluidiksystems, das in enger Zusammenarbeit mit der ELBAU GmbH in ein miniaturisiertes Analysesystem zur Detektion von Mikroorganismen mittels PCR integriert wurde.

Das Fluidiksystem besteht aus verschiedenen Komponenten, die spezifische Funktionen wie Zellaufschluss, Durchmischung, Bereitstellung der Reagenzien, Vervielfältigung der DNA etc. erfüllen. Die Ankopplung der einzelnen Module sowie die Steuerung und Regelung des Gesamtsystems wurde in Zusammenarbeit mit der ELBAU GmbH realisiert.

Die Konzeptentwicklung für das Fluidiksystem umfasste die Festlegung konstruktiver Vorgaben und Funktionsparameter.

Diese wurden basierend auf dem Know-how vom HZB im Bereich der Biochipentwicklung durch den Vergleich geeigneter Nachweisverfahren und die Möglichkeit zur Einbindung in das System definiert. Die genauen Spezifikationen wurden in Form eines Fragekataloges von allen Projektpartnern festgehalten. Die wichtigsten Inhalte sind technische Anforderung an das miniaturisierte Analysesystem, Eigenschaften von biologischen und chemischen Komponenten wie Enzymen und Farbstoffen sowie kritische Parameter und Lösungsansätze für die Fragen der Zellisolation und des Zellaufschlusses. Diese Spezifikationen wurden sowohl für die PCR als auch für die Durchflusszytometrie festgehalten. Für die Arbeiten des HZB waren dabei besonders die Punkte 1.1 Zellaufschluss und 2. PCR-Chip von Bedeutung.

Als Methode für den Zellaufschluss wurde die Anregung mit Ultraschall gewählt. Dafür wurde ein Ultraschall-Modul in 2 verschiedenen Ausführungen entworfen und gefertigt. Version V1.1 und Version V1.2 sind in Abb. 36 dargestellt.

Die von den Projektpartnern durchgeführten Versuche mit diesem US-Modul zeigten, dass der Ultraschall allein für den Zellaufschluss nicht genügt. Daher wurde das Design überarbeitet. Das Reservoirvolumen wurde um 1/3 reduziert, wobei die Tiefe und Breite der Reservoirkammer konstant gelassen wurden. Zudem wurde von den beiden abgeänderten

Versionen je ein Modul mit und ein Modul ohne Heizaussparung gefertigt. Diese Versionen V2.1 und V2.2 sind ebenfalls in Abb. 36 dargestellt.



Abb. 36: Dreidimensionale Modelle des Ultraschallmoduls in verschiedenen Versionen: Version 1.1 (oben links), Version 1.2 (oben rechts) sowie Version 2.1 (unten links) und Version 2.2 (unten rechts). Dabei ist a) das Probenreservoir, b) die Membran zur Einbringung des Ultraschalls und c) die Zu- und Abflussanschlüsse zur Überführung in ein Durchflussmodul. Die Versionen 1 und 2 unterscheiden sich im Volumen des Probenreservoirs (V1.1&V1.2 = 0,80mL, V2.1&V2.2 = 0,53mL)

Durch diese Designänderung war es möglich, den Zellaufschluss thermisch zu unterstützen. Die neuen Entwürfe wurden gefertigt und an den Projektpartner Elbau zur Endmontage übergeben.



Abb. 37: Fotoaufnahmen des Ultraschallmoduls V2.1. Links ohne und rechts mit zusätzlicher Aussparung für ein Heizelement

In Abb. 37 sind Fotoaufnahmen der Module zu sehen. Dabei wurde zusätzlich ein Modul gefertigt, welches eine Membranaussparung an der Rückseite besitzt. Durch diese kann mittels eines Heizelementes zusätzlich zum Ultraschall Wärme zum Zellaufschluss eingesetzt werden. Ein von Elbau fertig montiertes Ultraschallmodul mit doppelter Ultraschallankopplung zeigt Abb. 38.



Abb. 38: Fertiges Ultraschallmodul mit elektrischen Anschlüssen und doppelter Ultraschallankopplung

Der Schwerpunkt bei der Umsetzung des Arbeitspaketes "Miniaturisierung der quantitativen PCR" wurde auf die Entwicklung und Fertigung des Fluidiksystems für das PCR-Modul gelegt. Mit diesem sollen die Zuführung der Probe, die Vervielfältigung der DNA und die Detektion des PCR-Produktes gewährleistet werden. Da die Anforderungen an die Analysezeit von 10 bis 15 min klar definiert sind, wurde die Strategie der Probenführung über konstant beheizte Temperaturzonen gewählt, so dass lediglich die Probe wechselnd temperiert wird und keine Aufheiz- und Abkühlphasen des Systems zeitlimitierend wirken. Das Funktionsschema ist in Abb. 39 dargestellt.



Abb. 39: Schema des PCR-Moduls, in dem die DNA-Probe bidirektional durch die einzelnen Temperaturzonen und den Detektionsbereich gepumpt wird

Der gewählte Ansatz bietet des Weiteren die Möglichkeit der Integration eines Detektionssystems, bestehend aus einer LED zur Bereitstellung des Lichtes oder einer anderen Weißlichtquelle und einem Glasfaseranschluss zur Detektion der Fluoreszenzsignale mittels eines Spektrometers. Damit ist gewährleistet, dass die Probe nach jedem Temperaturzyklus hinsichtlich der DNA-Menge analysiert werden kann.

An das entwickelte Analysesystem wurden Vorraussetzungen wie Robustheit, Betrieb ohne personellen Mehraufwand und kostengünstiger Einsatz für die Qualitätsbestimmung von Frischeprodukten in Agrarbetrieben und bei Lebensmittelproduzenten gestellt. Das setzt voraus, dass alle verwendeten Komponenten entweder wartungsarm sind oder aus preiswerten Materialien bestehen, um Einwegkomponenten zu realisieren.

Das Fluidiksystem des PCR-Moduls wurde von vornherein als Einwegkomponente ausgelegt, um Kontaminationen durch vorhergehende Analysen und andernfalls notwendige, langwierige Reinungsprozeduren zu vermeiden. Als Material wurde Polycarbonat (PC), im Speziellen Makrolon®, gewählt, da es aufgrund der thermoplastischen Eigenschaften bestens für kostengünstige Replikationsmethoden wie Spritzguss und Heizprägen geeignet ist. Zudem besitzt es eine ausreichende Temperaturbeständigkeit mit einer Dauergebrauchstemperatur von 125°C und eine hohe Transparenz bei geringen Substratdicken (< 0,5 mm) in den für die Detektion interessanten Wellenlängenbereichen, siehe Tabelle 8 und Abb. 40.

Tabelle 8: Farbstoffe und deren Spezifikationen, die für die Detektion während der RealTime-PCR in Frage kommen

Farbstoff	Anregung λ [nm]	Emission λ [nm]
TAMRA	546	574
JOE	520	548
VIC	538	554
ROX	575	602
FAM	492	517



Abb. 40: Transmission von Makrolon® als Funktion der Wellenlänge (Bayer MaterialScience AG, Leverkusen)

Ein erster PCR-Chip wurde entwickelt und gefertigt. Der erste Entwurf ist als Prototyp in Abb. 41 zu sehen. In diesem Chipentwurf wurden drei Kanalbreiten (0,2 mm, 0,5 mm und 1 mm) sowie zwei verschiedene Kanaltiefen (0,2 mm und 0,4 mm) realisiert. Der Abstand zu den Heizelementen betrug 0,1 mm. An diesem Prototyp wurde die Heizsteuerung der ELBAU GmbH getestet. Die Erkenntnisse der ersten Versuche mit diesem Chip wurden in die Entwicklung der zweiten Chipversion integriert. Es wurde eine Designstudie des Fluidiksystems mittels feinwerktechnischen Verfahren hergestellt. Dabei zeigt sich, dass bei dem Fräsvorgang der Mikrokanäle Grate aufgeworfen werden, die auch durch eine optimierte Frässtrategie nicht verhindert werden konnten. Aus diesem Grund wurde nach einem Verfahren gesucht die Feinstgrate zu entfernen, da sie eine Störgröße sowohl bei dem Verschließen des Fluidikchips durch Bonden einer weiteren PC-Scheibe als auch für die Strömung in den Kanälen darstellen.



Abb. 41: Erster Fluidikchip für das PCR-Modul mit eingekoppelten Heizund Sensorelementen (Vordergrund) mit dazugehöriger Temperaturregelungseinheit (Hintergrund)

Für die zweite Version wurden Kanäle mit einem geringeren Probenvolumen konstruiert. Die zweite Version beinhaltete nur zwei Kanalbreiten (200 μ m und 500 μ m) mit einer einheitlichen Tiefe von 100 μ m. Um den Fluss der Probensubstanz zusätzlich zur Pumpstrategie variieren zu können, wurden je zwei Kanäle zusätzlich mit einer Mäanderstruktur versehen.

Während des Projektes wurde ersichtlich, dass die Aufwürfe nach dem Fräsen der Kanäle ein Problem für die später notwendige Deckelung des PCR-Chips darstellen. Daher wurde in einer Versuchsreihe die Gratentfernung mit einem CO₂-Schneestrahl-Reinigungsverfahren der Firma acp aus Esslingen getestet. Das Verfahren entgratet die Proben durch einen mechanischen Abtrag durch Druck- und Scherkräfte. Die erzielten Ergebnisse sind in Abb. 42 dargestellt. Obwohl die Ergebnisse vielversprechend waren, kam die Anschaffung eines solchen Gerätes nicht in Frage. Der Kostenfaktor in Zusammenhang mit den im HZB eingeschränkten Anwendungsgebieten für das Gerät machte eine andere Lösung erforderlich.



Abb. 42: Kanäle vor (jeweils links) und nach der CO2-Reinigung (jeweils rechts). Links am Beispiel eines 200 µm Kanals in Polycarbonat und rechts ein 100 µm breiter Kanal

Daher wurden weitere Möglichkeiten zur Herstellung der Kanalsubstrate verfolgt. Zuerst das Fertigen der Kanäle mittels Heißprägen. Bei Prägeversuchen mit einem Aluminiumwerkzeug konnten keine optimalen Prägeparameter gefunden werden, da es aufgrund des unterschiedlichen Schrumpfverhaltens des Werkzeuges und des Substrates zu Abplatzungen an den Kanälen kam. Das gefertigte Werkzeug ist in Abb. 43 zu sehen.



Abb. 43: Gefertigtes Heißprägeformwerkzeug für die direkte Abformung der Mikrokanäle in das PC-Substrat (links als Ganzes und rechts im Detail)

Mögliche Lösungsansätze für dieses Problem sind die Verwendung der Entformhilfe der Heißpräge HEX03 oder die Verwendung eines flexiblen Werkzeugmaterials. Aufgrund der festgesetzten Substratgröße kann die Entformhilfe der Präge nicht genutzt werden. Als flexibles Stempelmaterial wurde PDMS (Elastosil 607 RT und Elastosil 675 RT, Wacker) verwendet. Für die Stempelherstellung musste zunächst ein Master aus Aluminium hergestellt werden mit dessen Hilfe in einem weiteren Schritt der PDMS-Stempel hergestellt wurde. Des Weiteren musste eine Werkzeugaufnahme hergestellt werden, um ein Wegfließen des Substratmaterials zu verhindern. Aufgrund des flexiblen Stempelmaterials mussten die Abformungen bei höherer Temperatur und geringeren Drücken gemacht werden, da sich das Stempelmaterial unter sehr hohen Drücken verformt und die Abformgenauigkeit schlecht wird. Die Werkzeuge sind in Abb. 44 dargestellt.



Abb. 44: Hergestellter PDMS-Stempel (links) zur Verwendung mit der Werkzeugaufnahme für weitere Prägeversuche (rechts)

Die Abformungen wurden mit einer Kraft von 2 kN und einer Temperatur von 200°C realisiert. Bei Abformungen mit einer Substratdicke von 3 mm konnte eine sehr starke Verformung des Substrates beobachtet werden, weshalb auf 1 mm dicke Substrate umgestellt wurde. Hierbei konnte die Durchbiegung der Substrate verringert, aber nicht vollständig beseitigt werden. Auch Aufwürfe an den Kanälen konnten mit diesen Prozessparametern nicht beseitigt werden. Ein mit dem PDMS-Stempel geprägtes Substrat und Messdaten zu den Aufwürfen sind in Abb. 45 dargestellt.



Abb. 45: Geprägtes Substrat mittels PDMS-Stempel (oben) und Ergebnisse von Profilometermessungen (unten). Unten links ist die Durchbiegung und die Aufwürfe über die gesamte Substratbreite abgebildet, während rechts ein Kanal mit Aufwurf im Detail dargestellt ist. Bei diesen etwa 300 µm breiten Kanälen betrugen die Aufwürfe 45 µm

Um zu überprüfen, ob die Aufwürfe eine dichte Deckelung der Kanäle verhindern, wurden verschiedene Versuche durchgeführt.

So wurde einerseits eine Deckelung mittels Laserschweißen getestet. In Abb. 46 ist das Ergebnis dargestellt. Im mittleren Bereich sind Substrat und Deckel dicht verschweißt, was an der höheren Transparenz gut zu erkennen ist. Im Bereich der Kanäle hingegen verhinderten die Aufwürfe eine dichte Deckelung.



Abb. 46: Geprägtes Substrat links nach dem Laserschweißen und rechts nach thermischem Bonden. Beim Laserschweißen konnten Deckel und Substrat nicht dicht verschweißt werden. Im Falle des gebondeten Chips ist eine dichte Deckelung der oberen Kanäle gut zu erkennen, allerdings verschließen sich die kleinen Kanäle im unteren Teil. Zudem ist keine Maßhaltigkeit der Befüllungslöcher gegeben

Die Deckelung wurde mittels thermischem Bonden an der Heißprägeanlage getestet. Dabei konnte festgestellt werden, dass für eine ausreichende Haftung (bei Substraten mit bereits vorhandenen Befülllöchern) eine Temperatur von 170°C sowie eine Kraft von 9 kN notwendig ist. Bei diesen Prozessparametern zeigte sich allerdings, dass die Öffnungen sowie die schmalen Kanäle sich schließen. Ein Ergebnis dieser Versuche ist in Abb. 46 rechts zu sehen.

Um das Heißprägen als möglichen Herstellungsprozess für die Strukturen benutzen zu können, müssten eine weitere Prozessoptimierung und eventuell auch eine alternative Materialund Designwahl erfolgen.

Die weiteren Versuche wurden wieder mit gefrästen Kanalsubstraten durchgeführt. Diese sind schneller zu fertigen und weisen im Vergleich zu den geprägten eine geringe Durchbiegung auf. Das Problem des Grataufwurfs wurde durch die finale Einebnung mit einer Stirnfräse umgangen. Als Ausgangssubstrat für die Deckelung weisen die Kanäle nun noch feine Häutchen auf, welche eine Deckelung durch Laserschweißen verhindern. Als nächste Möglichkeit der Deckelung wurde das Verkleben mittels eines Negativlackes erprobt. Bei einem Klebeverfahren würden die Häutchen in den gefrästen Kanalstrukturen durch den flüssigen Lack kompensiert. Wie Abb. 47 zeigt, läuft der Lack in die feinen Kanalstrukturen. Dies macht auch diese Methode unbrauchbar für diese Deckelung.



Abb. 47: Mit Negativlack und UV-Belichtung verklebte Substrate. Besonders deutlich sichtbar ist das Vollaufen der Kanäle mit Lack an dem im Bild unteren Kanal

Somit blieb das Laserschweißen als die erfolgversprechendste Methode übrig und Methoden zur Entfernung der Häutchen ohne Verwendung des CO₂-Strahlers mussten gefunden werden. Versuche, die Häutchen mit einem Sauerstoff-Plasma zu entfernen, waren erfolgreich. Jedoch führte die Plasmabehandlung zu einer Passivierung der Substratoberfläche, wodurch die für das Laserschweißen verwendete Gentex-Clearweld-Beschichtung zu keiner Verschweißung von Substrat und Deckel mehr führte, siehe Abb. 48.



Abb. 48: Kanal- und Deckelsubstrat nach dem Laserschweißen. Die mit Sauerstoffplasma behandelte Oberfläche behinderte die Verschweißung der beiden Polycarbonat-Substrate.



Abb. 49: Gefräster Mäanderkanal (a) nach 45 min, (b) 90 min und (c) 150 min Polieren mit grober Körnung zur Häutchenentfernung, (d) Polieren mit feiner Körnung zur Oberflächenveredlung.

Daher wurde ein Polierschritt mit anschließender Reinigung der Kanalsubstrate für die Herstellung deckelbarer Substrate durchgeführt. Das Ergebnis dieses Polierschrittes zeigt Abb. 49.

Damit war ein in HZB durchführbarer Herstellungsprozess für die Fertigung der PCR-Chips gefunden. Einen erfolgreich laserverschweißten PCR-Chip mit Kanälen und Befülllöchern vor der Fertigung der Heizmembranaussparungen und der Detektorankopplungsflächen zeigt Abb. 50.



Abb. 50: Laserverschweißter PCR-Chip vor der Fertigstellung der weiteren Fräsarbeiten. Deutlich sichtbar ist Qualität der Verschweißung über die gesamte mit dem Laser abgerasterte Fläche.

Abschließend wurden in das gedeckelte Substrat Aussparungen für die Heizfolien mit Membrandicken zum Kanal von etwa 150 µm gefräst. Bei dieser geringen Materialstärke kann die Wärme gut in die mit der Probensubstanz gefüllten Kanäle übertragen werden. Für die Detektion wurde das Material sowohl für die Ein- als auch Auskopplung auf unter 1 mm Gesamtstärke ausgedünnt. Einen PCR-Chip mit Heizfolien und Befüllnadeln bestückt sowie die Heizeransteuerung zeigt Abb. 51.



Abb. 51: Detailaufnahme des PCR-Chips mit a) den Befüllnadeln, b) den Kanälen und c) der Heizaussparung mit rund 150 µm Materialstärke zum Kanal



Abb. 52: Vervollständigter PCR-Chip mit Heizfolien und Befüllnadeln und angeschlossener Heizeransteuerung.

Nach Anschluss des PCR-Chips an die Pumpe kann der Chip mit der zu analysierend Flüssigkeit befüllt werden. Danach kann das gewünschte Pump- und Heizprogramm ablaufen. Abschließend erfolgt die Detektion des Fluoreszenssignals durch die Detektionsflächen.

Konfiguration der Komponenten und Systemaufbau

Siehe Bericht des Kooperationspartners ELBAU (ANHANG).

Prüfung der entwickelten Verfahren und Entwicklung von Strategien für eine automatisierte Anwendung in der Gemüseproduktion

Die von den Projektpartnern zur Verfügung gestellten Materialien und Prototypen wurden entsprechend der jeweiligen Fragestellung der Projektpartner geprüft.

Prüfung der verwendeten Materialien

Zuerst sollte das Material des PCR-Chips getestet werden, um zu klären, ob eine Fluoreszenz durch das Polycarbonat des PCR-Chips hindurch zu detektieren ist. In einem ersten Test wurde mit SyberGreen gefärbte DNA in die Kanäle des PCR-Chips gegeben. Es konnte keine Fluoreszenz optisch festgestellt werden (Abb. 53).



Abb. 53: Detektion von DNA eingefärbt mit SybrGreen in Kanälen des PCR-Chips.



Abb. 54: Detektion von SybrGreen + DNA in Zusammenhang mit verschiedenen Materialen. (A) SybrGreen + DNA auf Glas aufgetropft; (B) auf Acryl aufgetropft; (C) auf Acryl und mit Acryl abgedeckt; (D) auf PCR-Chip aufgetropft; (E) auf Objektträger mit Deckglas abgedeckt; (F) auf Objektträger mit Objektträger abgedeckt; (G) auf Acryl mit Deckglas abgedeckt; (H) auf Acryl mit Objektträger abgedeckt.
In einer zweiten Testreihe wurden dann als alternative Materialien Glas und Acryl geprüft (Abb. 54). Es zeigte sich, dass einfach aufgetropfte, mit SybrGreen gefärbte DNA durchaus detektierbar war (Abb. 54, A-C). Wenn die Probe abgedeckt wurde, war es vom Material und der Schichtdicke abhängig, ob die Fluoreszenz zu detektieren war. Zum Beispiel: Wenn die gefärbte DNA auf Acryl gegeben und mit Acryl abgedeckt wurde, war keine Fluoreszenz erkennbar, ebenso wenig wenn sie auf Acryl aufgetropft wurde und mit einem Objektträger abgedeckt wurde (Abb. 54, D+H). War die DNA hingegen auf Glas oder Acryl getropft worden und wurde sie mit Glas abgedeckt, entweder einem Objektträger oder einem Deckglas, dann war die Fluoreszenz sichtbar (Abb. 54, E-G).

In einer dritten Versuchreihe wurde die Eignung von Polycarbonat mit verschiedenen Schichtdicken untersucht (Abb. 55). Die Fluoreszenz des DNA-SybrGreen-Komplexes war deutlich sichtbar, wenn dieser mit einer Polycarbonatplatte von nicht mehr als 1 mm Höhe abgedeckt war (Abb. 55, A). Bei zwei aufeinandergelegten Polycarbonatplatten nahm die sichtbare Fluoreszenz deutlich ab (Abb. 55, B). Bei einer Schichtdicke von über 2 mm war keine Fluoreszenz mehr erkennbar (Abb. 55, C). Die Ergebnisse wurden vom Projektpartner zur Anfertigung eines PCR-Moduls aus Polycarbonat genutzt.



Abb. 55: Detektion von mit SybrGreen gefärbter DNA in Abhängigkeit von unterschiedlichen Schichtdicken: 1mm (A), 2 Polycarbonatplatten (B), 2mm (C)

Prüfung des Moduls für den Zellaufschluss

Vorbedingung für den Nachweis von DNA in einem miniaturisierten PCR-Modul ist die Aufarbeitung des Probenmaterials, insbesondere die Lyse der mikrobiellen Zellen. Hierfür wurde ein Modul hergestellt, welches mittels Sonifizierung die Bakterienzellen zerstören und die Freisetzung der DNA bewirken sollte.

Als Testobjekt wurde eine 1 ml Suspension mit 10⁹ Zellen von *E. coli* (Proteobacteria, Gramnegativ) und *Lactobacillus* sp. (Firmicutes, Gram-positiv) mit dem Modul sonifiziert und eine Lebendkeimzahlbestimmung (LKZ) mittels Plattenausstrich durchgeführt. Es zeigte sich, dass die Sonifizierung mittels Modul keinen Einfluss auf die LKZ hatte. Zum Vergleich wurde mit einem handelsüblichen Gerät (Ultraschalllanzen) sonifiziert. Dies hatte einen deutlichen zerstörerischen Effekt auf *Lactobacillus* sp., allerdings nur einen geringen Effekt auf *E. coli*. Dieses zeigt, dass, wie zu erwarten, die Sonifizierung zwar grundsätzlich zur Lyse von Mikroorganismen geeignet ist, aber die Lyserate stark von der Art bzw. Struktur der zu lysierenden Mikroorganismen sowie der Leistung des Sonifikators abhängt.

In ergänzenden Versuchsreihen wurden unterschiedliche Verdünnungen der Bakteriensuspensionen sowie unterschiedliche Ultraschall-Energiedichten untersucht. Hierdurch wurde aber keine Verbesserung der Lyserate erzielt. Höhere Leistungsabgaben, vergleichbar mit handelsüblichen Ultraschallanzen, können mit miniaturisierten Modulen nicht erzielt werden (pers. Kommunikation Projektpartner).

Ebenfalls geprüft wurden verschiedene chemisch/enzymatische Protokolle zur Zelllyse sowie eine thermische Behandlung. Die Lyseraten der Verfahren waren zufriedenstellend, so dass an die Projektpartner die Empfehlung gerichtet wurde, ein alternatives Lysemodul zur thermischen Lyse, unterstützt durch entsprechende lysierende Agenzien, zu konstruieren. Die Bereitstellung eines entsprechenden Moduls ist bis zum Zeitpunkt der Berichterstellung jedoch noch nicht erfolgt.

Prüfung des Moduls für die Reinigung des Zellaufschlusses

Nach der Lyse der Zellen soll eine Reinigung der Suspension erfolgen, um ein Verstopfen der Kanäle des PCR-Chips zu verhindern, aber auch um die Effizienz der PCR zu erhöhen, welche durch verschiedene Zellinhaltsstoffe sowie durch Verunreinigungen in der Probenflüssigkeit (z.B. Huminstoffe) negativ beeinflusst oder gar inhibiert werden könnte.

Zur Reinigung sollte ein Modul konstruiert werden, welches in Anlehnung an eine Elektrophorese, die DNA in einem elektrischen Feld zu einer Kathode wandern lässt. Während die DNA dort verharrt, könnte die wässrige Phase durch einen Flüssigkeitsaustausch leicht entfernt werden. Anschließend könnte die DNA durch Abschaltung oder Umkehrung des elektrischen Feldes in Wasser oder einem geeigneten Puffer rückgelöst werden.

Hierfür wurde ebenfalls ein entsprechendes Modul durch die Projektpartner konstruiert. In praktischen Experimenten zeigte sich jedoch, dass die DNA nicht durch das elektrische Feld an der Kathode gehalten werden kann, während der Rest der Probe entfernt wurde (Abb. 56).



Abb. 56: Test des Reinigungsmoduls. 1-10= Proben nach 0 bis 120 s Verweilzeit im elektrischen Feld, 11= von der Kathode abgespülte DNA, M= DNA-Längenstandard.

Die bei der Entfernung der wässrigen Phase auftretenden Sogkräfte waren offensichtlich zu stark um durch die Kathodenspannung ausgeglichen zu werden.

In einer modifizierten Version des Reinigungsmoduls wurde daher eine Abtrennung der Kammer durch eine reversibel einführbare Schicht Agarose erzeugt. Theoretisch sollte die

DNA durch diese Schicht hindurch wandern, während unerwünschte Bestandteile der Probe auf der anderen Seite des Gels zurückbleiben sollten. Gleichzeitig würde durch das Gel ein Zurückströmen und Auswaschen der DNA während des Flüssigkeitsaustausches verhindert werden.



Abb. 57: Test des Reinigungs-Moduls. Foto unter UV-Licht nach einer, zwei, drei, fünf und zehn Minuten angelegter Spannung. Links= Gelstück mit einwandernder DNA , K= Kontroll-Gelstück ohne DNA.

Zur Prüfung des modifizierten Reinigungsmoduls wurde auf eine Seite der durch ein Gelstück getrennten Kammer eine DNA-Lösung gegeben und dann 10 V Spannung an das Modul angelegt. Nach bestimmten Zeitintervallen wurden die Lösungen rechts und links sowie das Gelstück entnommen und die DNA mittels UV-Licht sichtbar gemacht. Es zeigte sich, dass das theoretische Prinzip grundsätzlich geeignet ist (Abb. 57). Allerdings benötigte die DNA aufgrund der Dicke des Gelstücks sowie der verhältnismäßig niedrigen Spannung und der Größe der genomischen DNA mehr als fünf Stunden um das Gel vollständig zu durchwandern (Abb. 58).



Abb. 58: Test des DNA-Reinigungsmoduls. (A) DNA wurde in rechte Gelkammer pipettiert und Proben rechts und links des Gelstücks nach 0 h, 0,5 h, 1 h, 1,5 h, 2h und 4 h entnommen. R= rechte Seite des Moduls, L=linke Seite des Moduls, M= Marker; (B) Gelstück mit DNA nach 2 h (C) 4 h und (D) 5 h.

Zur praktischen Umsetzung des Verfahrens sind daher weitere Studien unerlässlich. Einerseits bleibt zu prüfen, ob nicht die Schichtdicke der Kammertrennung weiter reduziert oder ob die Feldstärke bzw. die Leistung des Moduls nicht erhöht werden kann. Andererseits könnten alternative Materialien zur Kammertrennung eingesetzt werden.

II.2. Darstellung der wichtigsten Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

siehe Anlage

II.3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

In dieser Studie wurden grundlegende Arbeiten zum Auftreten von pathogenen Keimen in der Aufarbeitung von Frischeprodukten am Beispiel der Gemüsereinigung durchgeführt. Im Falle von *Arcobacter* konnte ein bislang nicht bekannter, alternativer Verbreitungsweg, nämlich der über kontaminiertes Gemüse aufgezeigt werden. Wie geplant wurden verschiedene, kulturunabhängige und zugleich hochspezifische Verfahren zum zeitnahen Nachweis der ausgewählten Modellkeime etabliert. Sowohl für die Entwicklung von PCR- und Q-PCR-Protokollen wie auch für Verfahren zur zellbasierten Detektion via Durchflusszytometrie wurden grundlegende Arbeiten durchgeführt. Mittels der Durchflusszytometrie konnten darüber hinaus auch wertvolle Daten zur Inaktivierung von Mikroorganismen sowie zur Anwendung der Durchflusszytometrie zur Erfassung von Lebend/Tot-Keimzahlen erarbeitet werden. Weiterhin wurden die Arbeiten der Projektpartner zur Entwicklung eines miniaturisierten Detektionssystems durch experimentelle Tests der entwickelten Prototypen unterstützt.

Diese Studie liefert einen grundlegenden Beitrag zur Optimierung der Nachernteaufarbeitung, indem sie einerseits neue Verfahren zur Analytik der mikrobiellen Kontamination bereitstellt, andererseits neue Informationen zu dem Auftreten von mikrobiellen Kontaminanten und möglichen Kontaminationswegen bereitstellt. Die geleisteten Arbeiten werden daher durch die Projektbearbeiter insgesamt als notwendig und angemessen bewertet.

II.4. Verwertung der Ergebnisse

Die in dieser Studie erzeugten Ergebnisse sollen wie folgt verwertet werden:

(1) Erstellung einer Dissertation im Bereich "Molekulare Mikrobiologie", Einreichung an der TU Berlin geplant für 2010 (Kandidatin: Dipl.-Biol. L. Hausdorf, Akademischer Betreuer: Prof. Dr. D. Knorr)

(2) Erstellung einer Dissertation im Bereich "Zytologische Diagnostik", Einreichung an der TU Berlin geplant für 2010 (Kandidatin: Dipl.-Ing. A. Fröhling, Akademischer Betreuer: Prof. Dr. D. Knorr)

- (3) Erstellung verschiedener wissenschaftlicher Fachpublikationen (s. II.6)
- (4) Bereitstellung der neu isolierten DNA-Sequenzen in der NCBI-Genbank
- (5) Isolierung der bislang unbekannten Arcobacter Art und taxonomische Erstbeschreibung
- (6) Fortentwicklung der Module

II.5. Fortschritte von anderen Stellen

Wesentliche Fortschritte anderer Stellen auf dem in dieser Studie bearbeiteten Gebiet sind nicht bekannt. Punktuelle Aspekte wie die Isolierung und Beschreibung neuer Arten oder die Veröffentlichung neuer PCR-Primer für die Modellorganismen wurden in die Ergebnisdarstellung aufgenommen und im thematischen Zusammenhang bewertet.

II.6. Erfolgte und geplante Veröffentlichungen

Erfolgte Veröffentlichungen

- Hausdorf, L.; Fröhling, A.; Schlüter, O.; Klocke, M.; Adamzig, H.; Walter, A.D. (2008): Hygieneüberwachung per Chip: Prozessbegleitende Detektion von human- und phytopathogenen Mikroorganismen bei der Aufbereitung von Frischeprodukten. Landtechnik 63 (4): 224-225.
- Schlüter, O.; Fröhling, A.; McIntyre, L.; Hudson, A.; Bollington, C. (2008): ISEKI_Mundus a base to foster international exchange of expertise in food safety research. NZMS Conference 2008 Germs and Genomes in the Garden City, 18. 21. November 2008, Christ-church, New Zealand.
- Fröhling, A.; Adamzig, H.; Walter, A.; Hausdorf, L.; Klocke, M.; Schlüter, O. (2008): Biosensors for the detection of pathogenic microorganisms Concepts for determination of pathogens in fruits and vegetable processing using PCR-techniques and flow cytometry. Postharvest unlimited, 4. 7. November 2008, Potsdam, Germany.
- Fröhling, A.; Hausdorf, L.; Klocke, M.; Schlüter, O. (2008): Determination of pathogen viability in fruit and vegetable processing by means of flow cytometry. Postharvest unlimited, 4.
 7. November 2008, Potsdam, Germany.
- Hausdorf, L.; Fröhling, A.; Nettmann, E.; Schlüter, O.; Klocke, M. (2008): Detection of Arcobacter during processing of vegetables. International Conference on Agricultural Engineering (AgEng), 23. - 25. Juni 2008, Crete, Greece.
- Schlüter, O.; Adamzig, H.; Walter, A.D.; Fröhling, A.; Hausdorf, L.; Klocke, M. (2008): Microtechnology for in-situ detection of pathogens during postharvest processing of vegetables. 10th International Congress of Engineering and Food, 20. - 24. April 2008, Viña del Mar, Chile.
- Fröhling, A.; Geyer, M.; Knorr, D.; Ramminger, N.; Schlüter, O. (2008): Einsatzpotenzial der Durchflusszytometrie zur Chargen gerechten Prozessführung bei der Herstellung von leichtverderblichen pflanzlichen Lebensmitteln. ProcessNet-Fachausschuss Lebensmittelverfahrenstechnik, 10. - 14. März 2008, Freising, Deutschland.
- Walter, A.D.; Mertsch, O.; Adamzig, H.; Fröhling, A.; Hausdorf, L.; Klocke, S.; Klocke, M.; Schlüter, O.; Schondelmaier, D.; Loechel, B. (2007): Contamination control of agricultural products by on-chip PCR and flow cytometry. 12th International Commercialization of Micro and Nano Systems Conference, 2. - 6. September 2007, Melbourne, Australia.

Geplante Veröffentlichungen

- Fröhling, A.; Klocke, S., Hausdorf, L.; Klocke, M.; Schlüter, O.: Development of a staining assay for viability testing of *Pectobacterium carotovorum* using flow cytometry. Letters in Applied Microbiology *(in Vorbereitung)*
- Hausdorf, L.; Fröhling, A.; Schlüter, O.; Klocke, M.: Detection of *Arcobacter* during postharvest processing of vegetables. Canadian Journal of Microbiology *(in Vorbereitung)*.

- Hausdorf, L.; Neumann, M.; Sobiella, K.; Mundt, K.; Bergmann, I.; Klocke, M.: Enumeration of *Arcobacter* sp. in vegetable processing plants and evaluation of its genetic diversity. Journal of Food Protection *(in Vorbereitung*).
- Hausdorf, L.; Octoviani, A.; Mundt, K.; Bergmann, I.; Klocke, M.: Detection and enumeration of *Pectobacterium carotovorum* in a vegetable processing plant by quantitative PCR. Plant Pathology *(in Vorbereitung)*.

Referenzen

- Amann, R.I., Binder, B.J., Olson, R.J., Chisholm, S.W., Devereux, R., Stahl, D.A. (1990): Combination of 16S Ribosomal-Rna-Targeted Oligonucleotide Probes with Flow-Cytometry for Analyzing Mixed Microbial-Populations. Applied and Environmental Microbiology 56: 1919-1925.
- Amann, R. I., Ludwig, W., Schleifer, K.H. (1995): Phylogenetic identification and *in-situ* detection of individual microbial-cells without cultivation. Microbiological Reviews *59*: 143-169.
- Ananta, E., Voigt, D., Zenker, M., Heinz, V., Knorr, D. (2005): Cellular injuries upon exposure of Escherichia coli and Lactobacillus rhamnosus to high-intensity ultrasound. Journal of Applied Microbiology 99: 271-278.
- Aronsson, K., Ronner, U., Borch, E. (2005): Inactivation of Escherichia coli, Listeria innocua and Saccharomyces cerevisiae in relation to membrane permeabilization and subsequent leakage of intracellular compounds due to pulsed electric field processing. International Journal of Food Microbiology 99: 19-32.
- Ashelford, K.E., Chuzhanova, N.A., Fry, J.C., Jones, A.J., Weightman, A.J. (2006): New screening software shows that most recent large 16S rRNA gene clone libraries contain chimeras. Applied and Environmental Microbiology 72: 5734-5741.
- Assanta, M.A., Roy, D., Lemay, M.J., Montpetit, D. (2002): Attachment of *Arcobacter butzleri*, a new waterborne pathogen, to water distribution pipe surfaces. Journal of Food Protection 65: 1240-1247.
- Berney, M., Weilenmann, H.U., Egli, T. (2006): Flow-cytometric study of vital cellular functions in Escherichia coli during solar disinfection (SODIS). Microbiology *152*: 1719-1729.
- Berney, M., Hammes, F., Bosshard, F., Weilenmann, H.U., Egli, T. (2007): Assessment and Interpretation of Bacterial Viability by Using the LIVE/DEAD BacLight Kit in Combination with Flow Cytometry. Applied and Environmental Microbiology 73: 3283-3290.
- Beuchat, L.R. (1998): Surface decontamination of fruits and vegetables eaten raw: A review. WHO/FSF/FOS/98.2
- Beuchat, L.R. (1996): Pathogenic Microorganisms Associated with Fresh Produce. Journal of Food Protection *59*: 204-216.
- Breeuwer, P., Drocourt, J.-L., Bunschoten, N., Zwietering, M.H., Rombouts, F.M., Abee, T. (1995): Characterization of Uptake and Hydrolysis of Fluorescein Diacetate and Carboxyfluorescein Diacetate by Intracellular Esterases in *Saccharomyces cerevisiae*, Which Result in Accumulation of Fluorescent Product. Applied and Environmental Microbiology *61*: 1614-1619.
- Brightwell, G., Mowat, E., Clemens, R., Boerema, J., Pulford, D.J., On, S.L. (2007): Development of a multiplex and real time PCR assay for the specific detection of *Arcobacter butzleri* and *Arcobacter cryaerophilus*. Journal of Microbiological Methods *68*: 318-325.
- Brouwer, M., Lievens, B., Van Hemelrijck, W., Van den Ackerveken, G., Cammue, B.P.A., Thomma, B.P.H.J. (2003): Quantification of disease progression of several microbial pathogens on *Arabidopsis thaliana* using real-time fluorescence PCR. FEMS Microbiology Letters 228: 241-248.
- Budde, B.B. and Rasch, M. (2001): A comparative study on the use of flow cytometry and colony forming units for assessment of the antibacterial effect of bacteriocins. International Journal of Food Microbiology 63: 65-72.
- Bunthof, C.J. (2002): Flow Cytometry, Fluorescent Probes, and Flashing Bacteria. *Thesis.* Wageningen University.
- Collado, L., Cleenwerck, I., Van Trappen, S., De Vos, P., Figueras, M.J. (2009): *Arcobacter mytili* sp. nov., an indoxyl acetate-hydrolysis-negative bacterium isolated from mussels. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology *59*: 1391-1396.
- CAST Council for Agricultural Science and Technology (2009): Food Safety and Fresh Produce: An Update. CAST Commentary QTA2009-1.
- Da Silveira, M.G.; Abee, T. (2009): Activity of ethanol-stressed *Oenococcus oeni* cells: a flow cytometric approach. Journal of Applied Microbiology *106*: 1690-1696.

- Davey, H.M. (2002): Flow cytometric techniques for the detection of microorganisms. Methods in Cell Science 24: 91-97.
- De Smet, S., Vandamme, P., De, Z.L., On, S.L., Douidah, L., Houf, K. (2010): *Arcobacter trophiarum* sp. nov. isolated from fattening pigs. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. ijs.0.022665-0v1-ijs.0.022665-0.
- Diaper, J.P.; Edwards, C. (1994): The use of fluorogenic esters to detect viable bacteria by flow cytometry. Journal of Applied Bacteriology 77: 221-228.
- Doyle, M.P.; Erickson, M.C. (2008): Summer meeting 2007 the problems with fresh produce: an overview. Journal of Applied Microbiology *105*: 317-330.
- Endo, H., Nagano, Y., Ren, H.F., Hayashi, T. (2001): Rapid enumeration of bacteria grown on surimi-based products by flow cytometry. Fisheries Science 67: 969-974.
- European Commission. (2007) Commission Regulation (EC) No. 1441/2007 of 5 December 2007 amending (EC) No. 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs.
- Everis, L. (2004): Risks of pathogens in ready-to-eat fruits, vegetables, and salads through the production process. Review, Campden & Chorleywood Food Research Association: No. 44, vii + 94pp.
- Felsenstein, J. (1985): Confidence-limits on phylogenies an approach using the bootstrap. Evolution 39: 783-791.
- Fera, M.T., Maugeri, T.L., Gugliandolo, C., Beninati, C., Giannone, M., La Camera, E., Carbone, M. (2004): Detection of *Arcobacter* spp. in the coastal environment of the Mediterranean sea. Applied and Environmental Microbiology *70*: 1271-1276.
- Francis, G.A., Thomas, C., O'beirne, D. (1999): The microbiological safety of minimally processed vegetables. International Journal of Food Science; Technology *34*: 1-22.
- Gonzalez, A., Botella, S., Montes, R.M., Moreno, Y., Ferrus, M.A. (2007): Direct detection and identification of *Arcobacter* species by multiplex PCR in chicken and wastewater samples from Spain. Journal of Food Protection 70: 341-347.
- Gunasekera, T. S., Attfield, P. V., Veal, D. A. (2000) A Flow Cytometry Method for Rapid Detection and Enumeration of Total Bacteria in Milk. Applied and Environmental Microbiology 66 (3), 1228-1232.
- Hewitt, C.J.; Nebe-von-Caron, G. (2004): The Application of Multi-Parameter Flow Cytometry to Monitor Individual Microbial Cell Physiological Status. Advances in Biochemical Engineering / Biotechnology 89: 197-223.
- Hoefel, D., Grooby, W.L., Monis, P.T., Andrews, S., Saint, C.P. (2003): A comparative study of carboxyfluorescein diacetate and carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester as indicators of bacterial activity. Journal of Microbiological Methods 52: 379-388.
- Houf, K., Tutenel, A., De Zutter, L., Van Hoof, J., Vandamme, P. (2000): Development of a multiplex PCR assay for the simultaneous detection and identification of *Arcobacter butzleri*, *Arcobacter cryaerophilus* and *Arcobacter skirrowii*. FEMS Microbiology Letters *193*: 89-94.
- Houf, K., Devriese, L.A., De Zutter, L., Van Hoof, J., Vandamme, P. (2001): Development of a new protocol for the isolation and quantification of *Arcobacter* species from poultry products. International Journal of Food Microbiology 71: 189-196.
- Houf, K., On, S.L.W., Coenye, T., Debruyne, L., De Smet, S., Vandamme, P. (2009): Arcobacter thereius sp. nov., isolated from pigs and ducks. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 59: 2599-2604.
- Hughes, J.B., Hellmann, J.J., Ricketts, T.H., Bohannan, B.J.M. (2001): Counting the uncountable: Statistical approaches to estimating microbial diversity. Applied and Environmental Microbiology 67: 4399-4406.
- Iannelli, D., D'Apice, L., Fenizia, D., Serpe, L., Cottone, C., Viscardi, M., Capparelli, R. (1998): Simultaneous identification of antibodies to *Brucella abortus* and *Staphylococcus aureus* in milk samples by flow cytometry. Journal of Clinical Microbiology *36*: 802-806.
- Jacob, J., Lior, H., Feuerpfeil, I. (1993): Isolation of *Arcobacter butzleri* from a drinking-water reservoir in Eastern Germany. Zentralblatt fur Hygiene und Umweltmedizin 193: 557-562.

- Kim, H.M., Hwang, C.Y., Cho, B.C. (2010): *Arcobacter marinus* sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology *60*: 531-536.
- Kimura, M. (1980): A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide-sequences. Journal of Molecular Evolution *16*: 111-120.
- Kusunoki, H., Kobayashi, K., Kita, T., Tajima, T., Sugii, S., Uemura, T. (1998): Analysis of Enterohemorrhagic Escherichia coli Serotype O157:H7 by Flow Cytometry Using Monoclonal Antibodies. The Journal of Veterinary Medical Science 60: 1315-1319.
- Lavilla, M., Marzo, I., Luis, R.D., Perez, M.D., Calvo, M., Sánchez, L. (2010): Detection of *Clostridium tyrobutyricum* spores using polyclonal antibodies and flow cytometry. Journal of Applied Microbiology 108 (2): 488-498.
- Liao, C.-H. (2006): Bacterial soft rot. *In* G. M. Sapers, Gorny James R, and A. Yousef, eds. Microbiology of fruits and vegetables. Taylor and Francis Group, CRC Press. 117-133.
- Little, C.L. and Gillespie, I.A. (2008): Prepared salads and public health. Journal of Applied Microbiology 105 (6):1729-1743.
- Luscher, C., Balasa, A., Fröhling, A., Ananta, E., Knorr, D. (2004): Effect of High-Pressure-Induced Ice I-to-Ice III Phase Transitions on Inactivation of *Listeria innocua* in Frozen Suspension. Applied and Environmental Microbiology 70: 4021-4029.
- Miyanaga, K., Takano, S., Morono, Y., Hori, K., Unno, H., Tanji, Y. (2007): Optimization of distinction between viable and dead cells by fluorescent staining method and its application to bacterial consortia. Biochemical Engineering Journal 37: 56-61.
- Morono, Y., Takano, S., Miyanaga, K., Tanji, Y., Unno, H., Hori, K. (2004): Application of glutaraldehyde for the staining of esterase-active cells with carboxyfluorescein diacetate. Biotechnology Letters 26: 379-383.
- Nealson, K. (2009): Taking the concept to the limit: Uncultivable bacteria and astrobiology. *In* S. S. Epstein, ed. Uncultivated Microorganisms. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 195-204.
- Nebe-von-Caron, G., Stephens, P.J., Hewitt, C.J., Powell, J.R., Badley, R.A. (2000): Analysis of bacterial function by multi-colour fluorescence flow cytometry and single cell sorting. Journal of Microbiological Methods 42: 97-114.
- Nguyenthe, C.; Carlin, F. (1994): The Microbiology of Minimally Processed Fresh Fruits and Vegetables. Critical Reviews in Food Science and Nutrition *34*: 371-401.
- Novo, D., Perlmutter, N.G., Hunt, R.H., Shapiro, H.M. (1999): Accurate flow cytometric membrane potential measurement in bacteria using diethyloxacarbocyanine and a ratiometric technique. Cytometry *35*: 55-63.
- Ölmez, H.; Kretzschmar, U. (2009): Potential alternative disinfection methods for organic fresh-cut industry for minimizing water consumption and environmental impact. LWT Food Science and Technology *42*: 686-693.
- Rediers, H., Claes, M., Peeters, L., Willems, K.A. (2009): Evaluation of the cold chain of fresh-cut endive from farmer to plate. Postharvest Biology and Technology *51*: 257-262.
- Rice, E.W., Rodgers, M.R., Wesley, I.V., Johnson, C.H., Tanner, S.A. (1999): Isolation of *Arcobac*ter butzleri from ground water. Letters in Applied Microbiology 28: 31-35.
- Rodriguez, S.B.; Thornton, R.J. (2008): Use of flow cytometry with fluorescent antibodies in realtime monitoring of simultaneously inoculated alcoholic-malolactic fermentation of Chardonnay. Letters in Applied Microbiology *46*: 38-42.
- Saitou, N.; Nei, M. (1987): The Neighbor-Joining Method A New Method for Reconstructing Phylogenetic Trees. Molecular Biology and Evolution *4*: 406-425.
- Sapers, G.M. (2001): Efficacy of Washing and Sanitizing Methods for Disinfection of Fresh Fruit and Vegetable Products. Food Technology and Biotechnology 39: 305-311.
- Shapiro, H.M. (2000): Microbial analysis at the single-cell level: tasks and techniques. Journal of Microbiological Methods 42: 3-16.

- Stampi, S., Varoli, O., Zanetti, F., DeLuca, G. (1993): Arcobacter cryaerophilus and thermophilic Campylobacters in a sewage treatment plant in Italy - 2 secondary treatments compared. Epidemiology and Infection 110: 633-639.
- Stampi, S., De Luca, G., Varoli, O., Zanetti, F. (1999): Occurrence, removal and seasonal variation of thermophilic Campylobacters and *Arcobacter* in sewage sludge. Zentralblatt fur Hygiene und Umweltmedizin 202: 19-27.
- Suller, M.T.E.; Lloyd, D. (1999): Fluorescence monitoring of antibiotic-induced bacterial damage using flow cytometry. Cytometry 35: 235-241.
- Tang, Y.Z., Gin, K.Y. H., Lim, T.H. (2005): High-Temperature Fluorescent In Situ Hybridization for Detecting Escherichia coli in Seawater Samples, Using rRNA-Targeted Oligonucleotide Probes and Flow Cytometry. Applied and Environmental Microbiology 71: 8157-8164.
- Thomas, J.-C., Desrosiers, M., St-Pierre, Y., Lirette, P., Bisaillon, J.-G., Beaudet, R., Villemur, R. (1997): Quantitative flow cytometric detection of specific microorganisms in soil samples using rRNA targeted fluorescent probes and ethidium bromide. Cytometry *27*: 224-232.
- Vesey, G., Narai, J., Ashbolt, N., Williams, K., Veal, D. (1994): Chapter 29 Detection of Specific Microorganisms in Environmental Samples Using Flow Cytometry. *In J. P. R. a. Zbigniew Dar*zynkiewicz, ed. Methods in Cell Biology Flow Cytometry. Academic Press. 489-522.
- Vives-Rego, J., Lebaron, P., Nebe-von Caron, G. (2000): Current and future applications of flow cytometry in aquatic microbiology. FEMS Microbiology Reviews 24: 429-448.
- Wallner, G., Amann, R., Beisker, W. (1993): Optimizing Fluorescent Insitu Hybridization with Ribosomal-Rna-Targeted Oligonucleotide Probes for Flow Cytometric Identification of Microorganisms. Cytometry 14: 136-143.
- Wesley, I.V., Schroedertucker, L., Baetz, A.L., Dewhirst, F.E., Paster, B.J. (1995): Arcobacter-Specific and Arcobacter Butzleri-Specific 16S Ribosomal-Rna-Based DNA Probes. Journal of Clinical Microbiology 33: 1691-1698.
- Yaqub, S., Anderson, J.G., MacGregor, S.J., Rowan, N.J. (2004): Use of a fluorescent viability stain to assess lethal and sublethal injury in food-borne bacteria exposed to high-intensity pulsed electric fields. Letters in Applied Microbiology *39*: 246-251.



Zuwendungsempfänger:	Förderkennzeichen:				
ELBAU [®] Elektronik Bauelemente GmbH Berlin					
Darßer Bogen 19	0339992E				
13088 Berlin					
Vorbehendensiehen wer					
Vornabenbezeichnung:					
Verbundprojekt:					
"Erschließung von Nachhaltigkeitspotenzial durch Nutz	ung innovativer Sensor-				
technologie und ganzheitlicher Bewertungsmodelle in d	ler Produktionskette von				
pflanzlichen Lebensmitteln"					
Teilprojekt:					
"Mikrosystemintegration zum Schadkeimmonitoring bei Frise	cheprodukten"				
Laufzeit des Vornabens:					
01.07.2006 – 31.12.2009					
Berichtszeitraum:					
01 07 2006 31 12 2009					
01.07.2000 - 31.12.2009					
Projektleiter:					
DiplIng. Adamzig, Holger					
Projektpartner:					
BESSY GmbH					
Application Center of Microengineering					
Albert-Einstein-Straße 15					
12489 Berlin Germany					
Leibniz-Institut für Agrartechnik					
Potsdam-Bornim e.V.					
Max-Eyth-Allee 100					
D - 14469 Potsdam					

Erstellt:	Adamzig	Prüfung:		Freigabe:		
Datum:	24.06.10	Datum:		Datum:		
Verteiler:						
Dateiname: Abschlussbericht_Elbau.doc						
Dieses Dokument ist Eigentum der Firma ELBAU GmbH Berlin. "Schutzvermerk nach DIN 34 beachten"						



00-6/10

2/31

Inhalt

1.	Einl	itung	3
2.	Ziels	tellung	3
3.	lm E	erichtszeitraum durchgeführte Arbeiten	4
	3.1	Technisches Konzept/ Herangehensweise	4
	3.2	PCR-/ Fluidik Chip	6
	3.2.	Realisierung des PCR-/ Fluidik Chips	6
	3.2.	Temperaturregelung	8
	3.3	Zelllyseeinheit	12
	3.3.	Allgemeines	12
	3.3.2	Entwurf/ Erprobung Ultraschallmodul für Zellisye	14
	3.3.	Ultraschallgeber, Ansteuerung, Integration in Ultraschallkammer	17
	3.3.4	Modul für die DNA-Isolation	24
	3.3.	Detektionseinheit	26
	3.4	Projektstatus	
	3.4.	Zusammenfassende Ergebnisse	
	3.4.	Verwertung der Ergebnisse aus der FuE- Kooperation	
	3.4.	Bekannt gewordene Fortschritte Dritter (FE-Ergebnisse, die für die Durch	führung
		des Vorhabens relevant sind)	
	3.4.	Veröffentlichung der Projektergebnisse	31



1. Einleitung

Keimbelastetes Obst und Gemüse aufgrund des Befalls mit Krankheits- und Schaderregern stellen für den Verbraucher ein Gefährdungspotential dar und verursachen bei Landwirten und Züchtern erhebliche wirtschaftliche Einbußen.

Die Aufbereitung von Kartoffeln, Gemüse und Obst für den Handel und z.T. für die Lagerung erfolgt durch Waschschritte und dient der Hygienisierung der Produkte. Die damit verbundene Reduzierung der schädigenden Keime vermindert den vorzeitigen Verderb der Produkte während der Lagerung und beim Verbraucher.

Demnach besteht ein großes Interesse, den Erfolg des Waschprozesses zeitnah zu bestimmen und eine Änderung der Prozessparameter bei entsprechender Keimanzahl vorzunehmen.

Die derzeit auf dem Markt üblichen mikrobiologischen Untersuchungen entsprechen nicht der geforderten einfachen und preiswerten Handhabung, sowie einer schnellen Erfassung der Daten ohne manuelle Zwischenschritte.

2. Zielstellung

Ziel des Projektes ist die Entwicklung eines miniaturisierten Biosensorsystems, das den Kontaminationsgrad des Waschwassers mit spezifischen Schaderregern zeitnah vornimmt und anschließend gezielt den Wasch- und Reinigungsprozess von Obst und Gemüse steuert.

Das miniaturisierte Biosensorsystem, in dem einzelne Komponenten zum Transport der Reagenzien, der Filtrierung, der Mischung, der Temperierung und Detektion integriert sind, wird durch den Einsatz und der Kombination verschiedener Technologien der Mikrosystemtechnik realisiert. Die Detektion der Schaderreger findet über einen Chip-basierten PCR-Nachweises statt. Die Keimbestimmung und deren Charakterisierung erfolgt anhand einer spektrometrischen Fluoriszenzmessung.

Begonnen wurde mit Material- und Werkstoffuntersuchungen und prinzipiellen Lösungen für die Kombination dieser Materialien mit den Biorezeptoren.

Weiterhin gilt es, folgende Aufgaben zu bearbeiten:

Die konstruktiven Vorgaben wurden zu Beginn der Arbeiten in einem Pflichtenheft definiert. Alle Funktionsmuster des Biosensorsystems (oder Teilssystems) wurden den Partnern zur weiteren Konfektionierung und für bioanalytische Eignungsuntersuchungen zur Verfügung gestellt.

3. Im Berichtszeitraum durchgeführte Arbeiten

Im Teilprojekt "Mikrosystemintegration zum Schadkeimmonitoring bei Frischeprodukten" wurden folgende Arbeitspakete bearbeitet.

- AP 1 Konzeptentwicklung
- AP 2 Entwurf und Realisierung PCR-Modul
- AP 3 Entwurf und Realisierung FluidikeinheitT
- AP 4 Entwurf und Realisierung der Steuer- und Regelungseinheit des Sensorsystems
- AP 5 Aufbau des Gesamtsystems (Demontrator)

3.1 Technisches Konzept/ Herangehensweise

Das miniaturisierte Biosensorsystem, in dem einzelne Komponenten zum Transport der Reagenzien, der Filtrierung, der Mischung, der Temperierung und der Detektion integriert sind, wird durch den Einsatz und der Kombination verschiedener Technologien der Mikrosystemtechnik realisiert. Die Bestimmung der Art und Anzahl der Schaderreger soll in einem Chip-basierten PCR- Nachweis stattfinden. Die Charakterisierung erfolgt auf Basis optischer Fluoreszenzmessung. Begonnen wurde mit der Definition der Einzelkomponenten. In direkter Abstimmung mit den Projektpartnern wurden Material- und Einzelkomponentenuntersuchungen durchgeführt und prinzipielle Lösungen für die Anordnung und Dimensionierung der Einzelkomponenten erarbeitet. Die anschließende Verknüpfung der Einzelkomponenten ergibt das in

Abbildung 1 beschriebene Sensorsystem.

Zunächst wird dem Waschwasser eine Probe entnommen, die dann über ein Filtersystem von Verunreinigungen getrennt wird. Nach Zugabe einer Pufferlösung wird das Waschwasser gemischt und mittels eines Pumpensystems zum Fluidikchip befördert.

Die Schadkeime im Waschwasser werden über die Detektion der DNA analysiert. Deshalb muss man die Zellen in der Suspension lysieren, d.h. aufschließen, um die DNA freizulegen. Dies soll über Ultraschallbeaufschlagung geschehen.





→ Kopplung über Kanäle, Mikroventile ...

Abbildung 1: Gesamtkonzept des Analysechips

Im weiteren Schritt wird die freigelegte DNA isoliert. Die verbleibenden Zellbestandteile werden ausgesondert. Im Idealfall liegt nun nur noch die DNA vor, die durch Zugabe der PCR Reagenzien dem PCR- Chip zugeführt wird.

In der anschließenden PCR geht es darum, die vorhandene DNA zu vervielfachen. Hierfür werden drei verschiedene Temperaturen benötigt, die in kurzer Zeit von der Lösung durchlaufen werden. Ein Durchlauf entspricht einem Zyklus. Es werden mehrere Zyklen benötigt, um die gewünschte Menge an DNA zu erhalten.

Eine qualitative und quantitative Aussage zu den Schadkeimen kann durch die Zugabe eines Farbstoffes vorgenommen werden. Bei entsprechender Anregung mit Licht emittiert die mit Farbstoff versetzte DNA Licht mit einer bestimmten Wellenlänge und Intensität. Über ein Spektrometer wird die Fluorenszenz gemessen und bewertet.

Im Einzelnen sind folgende Aufgabenpakete bearbeitet worden:

- Entwurf, Dimensionierung und Realisierung eines
 - o PCR- Moduls (Fluidikchip mit integrierter Heizerstrecke mit T- Sensoren/ Regelung)
 - Zelllyse- Moduls (Auswahl und Erprobung geeigneter Zelllysemethoden; Entwurf, Dimensionierung eines Zelllysemoduls auf Ultraschallbasis)
 - DNA- Isolationsmoduls



6/31

- Definition und Umsetzung Detektionseinheit (gemeinsam mit den Projektpartnern)
- Anbindung peripherer Module (Ventile, Pumpen) und Verknüpfung zu einem Gesamtsystem (Schlauchverbinder, Ventile, Spritzen-Pumpe -> bearbeit durch Projektpartner Bessy)

3.2 PCR-/ Fluidik Chip

Der schematische Aufbau der PCR- Einheit ist in Abbildung 2 dargestellt. Als Basis der PCR- Einheit dient ein Kunststoffträger aus Polycarbonat, in dem Kanäle für den Probentransport sowie Heizelemente und Temperatursensoren eingebracht sind. Die PCR durchläuft zyklisch 3 Temperaturzonen mit 95°C (Denaturierung), 52°C (Primerhybridisierung) und 72°C (Elongation). Die nachgeschaltete Detektionseinheit bestimmt die spezifischen Wellenlängen (Art der Erreger) und die Intensität der Signale (Anzahl der Erreger).



Abbildung 2: Schematischer Aufbau PCR- Chip

3.2.1 **Realisierung des PCR-/ Fluidik Chips**

Der PCR- Chip besteht aus einem gefrästen Ober- und Unterteil, in dem die Kanäle sowie die Kavitäten für die Heizelemente und Temperatursensoren eingelassen sind. Die Materialauswahl erfolgte anhand der nachfolgend genannten Kriterien.

- Material
 - Polycarbonat
 - Transparent für Fluoreszenzmessungen
 - Biokompatibel
 - Temperaturbeständig bis max. 130°C



- Prozessschritte
 - Fertigung der Fluidikteile mittels Fräsen (Bessy)
 - Fügen mittels Laserschweißen (Bessy)
 - Einpassen von Kanülen zur Fluidikankopplung (Elbau)
 - Anbindung der Heizerelemente und Temperatursensoren (Elbau)

Ziel des ersten Aufbaus der PCR- Einheit war es, die thermische Anbindung von Heizelementen und Temperatursensoren zu realisieren, die geometrische Anordnung der drei Temperaturzonen ohne gegenseitige Beeinflussung zu bestimmen sowie den schaltungstechnischen Entwurf der Temperaturregelung zu erproben. Hierzu ist der in Abbildung 3 dargestellte Prototyp der PCR-Einheit aufgebaut und vermessen worden.



Abbildung 3: Prototyp des PCR-Chips

In einer Weiterentwicklung der Fluidikeinheit wurden weitere Bestand in das Chip integriert. So sind die zuvor getesteten Mischerstrukturen in den Aubau integriert worden. Weiterhin sind die Erkenntnisse des ersten Aufbaus in den neuen Aufbau übernommen worden (thermische Anbindung, Schlauchanbindung über Kanülen, optional verwendbare Ultraschallkammer zur Zelllyse, Fügen über Laserschweißen).

Das zweite Funktionsmuster ist in Abbildung 4 dargestellt.



Elektronik Bauelemente

Abschlussbericht Mikrosystemintegration zum Schadkeimmonitoring bei Frischeprodukten Dok.-Nr.: Änd.-zust.: Seite:

00-6/10 8/31



Abbildung 4: Funktionsmuster PCR- Fluidikchip mit Temperierung

3.2.2 Temperaturregelung

Die Temperierbereiche sind mit Heizfolien und Temperatursensoren aufgebaut worden, die für alle drei Temperaturbereiche getrennt gesteuert und geregelt werden können. Hierzu ist durch ein im Probenbereich platziertes zusätzliches Thermometer die Ist- Temperatur erfasst worden, um den Regler auf die gewünschte Soll- Temperatur abzugleichen. Der Aufbau der PCR- Einheit sieht drei Kanäle unterschiedlicher Geometrie für den jeweiligen Temperaturbereich vor. In der nachfolgenden Tabelle sind die Messwerte mit Angabe der Regelabweichung in den Zonen dargestellt. Die Temperaturregelung erfolgte anhand einer extern angeschlossenen Kontrolleinheit. Der Aufbau ist in Abbildung 4 dargestellt.





Abbildung 5: Aufbau der Temperaturregelstrecke

Tabelle 1:Temperaturmesswerte der drei Temperaturzonen, gemessen jeweils an den in der
Skizze gekennzeichneten Bereichen

Bereich (siehe Skizze)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Temperatur in °C								
Maximalwert	76,1	95,6	84	47,7	51,4	48,2	58,3	72,2	66,9
Minimalwert	76	95,4	83,8	47,5	51,2	48	58,1	72	66,7
Spannweite	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
			_						
3				6 9					
	2			5		8			



Im Ergebnis dieser Untersuchung konnte festgehalten werden, dass die Temperaturverteilung über die Fläche der Heizfolie nicht konstant ist. Hingegen ist die Regelabweichung von der Solltempera-



tur unterhalb der vorgegebenen Grenze von 0,5K. Um den Grund für den Temperaturabfall zum Rand der Heizfolien zu ermitteln wurden Aufnahmen mit einer Thermografiekamera im Heiz- bzw. Abkühlmodus der Heizer durchgeführt. Das Ergebnis dieser Untersuchung ist in den nachfolgenden Abbildungen dargestellt.



Abbildung 6: a) Heizfolie im Heizbetrieb (gleichmäßige Temperaturverteilung) b) Heizfolie in der Abkühlphase (ungleichmäßige Temperaturverteilung)

Die Temperaturverteilung auf der Heizfolie ist während des Heizstromflusses weitgehend homogen (ca. 2sek Heizphase). In der Abkühlphase ist die Tendenz zu einer ovalen Temperaturverteilung (ca. 10sek Abkühlphase, Außenbereiche der Folie kühlen schneller ab) zu beobachten, was den Grund zu für die ungleichmäßige Temperaturverteilung über den PCR- Chip innerhalb einer Temperaturzone darstellt.

In einem weiteren Versuch wurden alle drei Heizstrecken auf dem Chip gleichzeitig betrieben. Motivation hierfür war, die Beeinflussung der einzelnen Zonen im Gesamtsystem zu untersuchen. Das Ergebnis ist in Abbildung 6 dokumentiert.



Es ist deutlich zu erkennen, dass es zwar einen Temperatureintrag umlaufend der Heizfolienpositionen gibt jedoch keine Beeinflussung der einzelnen Temperaturzonen stattfindet.

Für weitere Aufbauten wird die Lage der Kanäle zum Heizelement so gewählt, dass diese mittig zu den Heizfolien geführt werden.



Abbildung 7: Temperaturverteilung im PCR- Chip im Betrieb aller drei Heizelemente

Es ist deutlich zu erkennen, dass es zwar einen Temperatureintrag umlaufend der Heizfolienpositionen gibt jedoch keine Beeinflussung der einzelnen Temperaturzonen stattfindet. Für weitere Aufbauten wurde die Lage der Kanäle zum Heizelement so gewählt, dass diese mittig zu den Heizfolien geführt werden.



3.3 Zelllyseeinheit

3.3.1 Allgemeines

Die Zelllyse beschreibt einen Vorgang des Aufschlusses einer Zelle, d.h. die Zellmembran oder gegebenenfalls die Zellwand und die Kernmembran werden lysiert. Dies dient der Freilegung aller Zellbestandteile, jedoch meist mit dem Ziel bestimmte Proteine bzw. RNA oder DNA später zu isolieren.

Es existieren verschiedene Möglichkeiten des Aufschlusses (siehe Abbildung 2). Zum Einen gibt es die chemischen und biologischen Methoden und desweiteren wären die physikalischen Methoden zu nennen, welche sich noch einmal unterteilen lassen in nicht-mechanische und mechanische Verfahren. Es finden jedoch auch Verbindungen von z.B. chemischen und physikalischen Methoden Verwendung.



Abbildung 8: Übersicht zu Zellaufschlussmöglichkeiten

Zu den biologischen Verfahren zählen die Zugabe von Enzymen oder Phagen, welche die Zellmembran zerstören und die Autolyse, wobei die Zelle sich selbst lysiert. Dies geschieht nach einer bestimmten Lebensphase der Zelle, in der sie langsam abstirbt.



Bei der Thermolyse wird die Zelle bei ca. 90 bis 100 °C für 30 bis 120 s aufgekocht. Die Dauer ist abhängig von den verschiedenen Bakteriengruppen. Durch die hohen Temperaturen denaturiert das Eiweiß der Zellmembran und legt dadurch die Zellorganellen frei. Aufgrund der geringen Kenntnisse zu dieser Methode wurde sie zunächst nicht weiter bearbeitet. Sie wird jedoch als Alternativvariante angesehen.

Häufige und weit verbreitete Verwendung finden auch die mechanischen Methoden des Zellaufschlusses. Dazu gehören die Lyse mittels Druck, die Kugelmühle, die Elektroporation und der Ultraschallzellaufschluss.

Der Ultraschallzellaufschluss beruht auf der schädlichen Wirkung von Ultraschallwellen auf Zellen ab einer bestimmten Amplitude. Die Frequenz sollte hierbei zwischen 20 und 50 kHz liegen, wobei der untere Ultraschallbereich von ca. 20 bis 25 kHz für gute Aufschlussgrade geeignet ist. Die Betriebspannung liegt ca. zwischen 100 und 300 V, doch hier gibt es unterschiedliche Angaben in Abhängigkeit vom verwendeten Piezo- Material.

Auf diesem Prinzip basieren auch die Ultraschallreiniger und es findet im großtechnischen Bereich Verwendung bei der Klärschlammreduktion.

Man entschied sich aufgrund der gegebenen Parameter für die Ultraschallzelllyse. Diese benötigt nur einen geringen Zeitaufwand bei gleichzeitig guten Aufschlussgraden und desweiteren gibt es keine Verunreinigungen der Suspension, wie etwa bei den chemischen oder biologischen Verfahren durch Zugabe verschiedener Stoffe. Dies ist für die weitere Verarbeitung von großer Bedeutung. Außerdem lässt sich dieses Konzept recht gut in ein mikrotechnisches Format bringen, auch wenn sich die Entwicklung der Ansteuerung als sehr komplex herausstellte.

Das Zelllysemodul muss somit einen Schallerzeuger beinhalten. Dies wird umgesetzt mit Hilfe einer piezoelektrischen Keramik. Die Piezokeramik wird in das Modul aus Polycarbonat mittels Kleber integriert, wie in Abbildung 3 zu sehen ist, und über eine kleine Elektronik gesteuert. Es soll somit ein Ultraschallsignal von 20 kHz erzeugen und an das Medium weitergeben.





Abbildung 9: Schematische Darstellung des Ultraschallmoduls (Querschnitt)

3.3.2 Entwurf/ Erprobung Ultraschallmodul für Zellisye

Beim letzten Arbeitstreffen wurde mit den Projektpartnern die Thematik der Zelllyse besprochen (Aufbrechen einer Zelle durch Schädigung der äußeren Zellmembran um an die DNA im Zellinneren zu gelangen). In der biologischen Analytik wird dies durch mechanische oder chemische Methoden realisiert. Einer der mechanischen Methoden ist die Beaufschlagung der Zellkörper mit Ultraschall.

Die Methode der Ultraschall- Zelllyse wurde gewählt, da sie gegenüber z.B. der thermischen Zelllyse einfacher in das Gesamtsystem zu einzubinden ist. Hierzu sind folgende Aufgabenstellungen zu bearbeiten:

- Auswahl Ultraschallschwingkörper auf Basis einer Piezokeramik (PZT)
- Entwurf und Dimensionierung einer Kunststoffmembran (Polycarbonat, Membran direkt in die Formhälften des Fluidiksystems eingearbeitet); die Erprobung erfolgt an separat gefertigten Kunststoffmembranen
- Erarbeitung einer geeigneten Fügetechnologie der Piezokeramikscheiben (Auswahl/ Erprobung Klebematerialien)
- Erprobung Kontaktierungstechnologie (Lötmontage unter Beachtung der thermischen Belastbarkeit der Piezokeramiken)

Ausgewählt wurden Piezokeramikscheiben mit einem Durchmesser von 8 mm und einer Dicke von 0,25 mm. Die Elektrodenanschlüsse sind auf der Vorderseite angeordnet, um eine optimale klebtechnische Ankopplung an die Kunststoffmembran zu realisieren. Die Kunststoffmembran stellt das



Bindeglied zwischen der Piezokeramik und dem Probenfluid dar. Um eine möglicht ideale Ankopplung ohne erhebliche Verluste zu realisieren, wurde die Konstruktion der Membran unter diesem Gesichtspunkt umgesetzt. Der konstruktive Entwurf der Membran ist in Abbildung 10 dargestellt.



Abbildung 10: Schematisch dargestellter Entwurf der Kunststoffmembran für den Ultraschallaktor

Anhand der in Tabelle 1 dargestellten Versuchmatrix wurden Probekörper der Membran frästechnisch gefertigt und daran unterschiedliche Klebsysteme zum Fügen des Ultraschallgebers auf Polycarbonat auf ihre Eignung getestet.

Im Ergebnis der Untersuchungen zeigte sich, dass das Klebesystem #2 hinsichtlich der Adhäsion und der Ultraschallankopplung auf Polycarbonat die besten Ergebnisse zeigte. Die im nächsten Schritt aufzubauenden PCR- Chips werden die zuvor untersuchte Membranstruktur enthalten. Es wurden die Ergebnisse aus den Voruntersuchungen zur Technologie und Integration auf die Neuaufbauten übertragen.



Tabelle 1: Versuchsmatrix Klebung Piezokeramik/ Polykarbonat- Membran/ Bewertung

Klebersystem	Härtung	Bewertung Klebung	Bewertung US-Ankopplung
a) zäh elastischer	1 h bei 80°C	Sehr gute Haftung auf Po-	Zu geringe Amplitude gegen-
Epoxy <u>(#1)</u>		lycarbonat und Piezoschei-	über Referenzmuster (Härte
		be	Kleber: Shore A 100)
b) harter Epoxy (#2)	4 h bei 120°C	PC gast bei Härtetempera-	Sehr gute US- Ankopplung,
		tur aus, Blasenbildung in	Amplitude vergleichbar mit
		der Klebefuge	Referenzmuster (Härte Kle-
		→ Temperung der Kunst-	ber: Shore D 80)
		stoffmembranen bei 125°C	
		für 6 h	
c) harter Epoxy (#3)	1 h bei 80° C	Adhäsionsversagen auf PC	Anfänglich sehr gute US- An-
		bei Biegebeanspruchung	kopplung, zunehmendes Ver-
		der Membran	sagen der Klebung im Betrieb
			(Härte Kleber: Shore D 75)
d) Cyanacrylat (#4)	30 sec. bei RT	Sehr gute Haftung auf Po-	Sehr gute US- Ankopplung,
	+ 24 h Nachhär-	lycarbonat und Piezokera-	Amplitude vergleichbar mit
	tung	mik	Referenzmuster; es liegen
			noch keine Erkenntnisse zur
			Beständigkeit der Klebung
			gegenüber Isopropanol, Was-
			ser vor



Abbildung 11: Testmuster Ultraschallgeber auf Polycarbonat- Membran



Über die mikrofluidische Ankopplung gelangt die Suspension in die Kammer, sammelt sich dort kurz, wird beschallt und durch die erwähnten Kavitationen kommt es in der Flüssigkeit zu kleinen Explosionen, die die Zelle zerplatzen lassen. Die Zellbestandteile befinden sich nun frei in der Suspension, womit die Zellyse abgeschlossen ist. Die Flüssigkeit kann nun weiter zum nächsten Modul geleitet werden.

3.3.3 Ultraschallgeber, Ansteuerung, Integration in Ultraschallkammer

Ultraschallgeber

Das Zelllyse-Modul benötigt einen Schallgeber für Ultraschall von 20-25 kHz. Dazu kann ein kleines Piezoelement genutzt werden.

Der piezoelektrische Effekt beschreibt das Verhalten einiger Keramiken und Kristalle, z.B. Quarz, wenn eine Kraft auf sie einwirkt. So wird bei Zug oder Druck eine Deformation des Kristalls oder der Keramik hervorgerufen, was dazu führt, dass elektrische Ladung freigesetzt wird. [Quelle CeramTec] Die Umkehrung dazu sagte Gabriel Lippmann 1881 voraus, wobei ihm die Brüder Curie zustimmten. Es gelang ihnen wenig später auch dies nachzuweisen. Damals verwendete man Kristalle, heute jedoch kommen zumeist technische Keramiken, wie z.B. Bariumtitanat und Bleizir-konattitanat (PZT) zur Anwendung. Diese Keramiken werden daher stetig weiter entwickelt und verbessert. [piezoeffekt.de]

Die Polarisation eines Stoffes ist abhängig vom Kristallgitter. So benötigt man eine Struktur mit einem Symmetriezentrum um eine Verschiebung des Ladungsschwerpunktes hervorrufen zu können und diese Kristalle benötigen mindestens eine polare Achse. So gibt es verschiedene Polarisationsrichtungen, die longitudinale, welche entsteht wenn die Anregung parallel zur polaren Achse ausgerichtet und die transversale, wobei die Anregung senkrecht zur polaren Achse steht. [Physikinstrumente.de]

Die hier benötigte Dickenschwingung beruht auf dem Longitudinaleffekt, so entsteht parallel zur Richtung des elektrischen Feldes eine Deformation.

Wird dieses Feld über Wechselspannung angeregt, kommt es zu Schwingungen des Piezos. Je nach verwendetem Material können Schwingungen in unterschiedlichen Frequenzbereichen erzeugt werden.

Es gibt Keramiken, welche speziell für den Ultraschallbereich entwickelt wurden. Diese eignen sich



für Frequenzen von 20 kHz bis mehrere MHz und ein Anwendungsbereich sind die Ultraschallreiniger.

Für dieses Modul benötigt man also eine Keramik, welche für Ultraschall im unteren Bereich geeignet ist. Man findet dazu verschiedene Hersteller und viele verschiedene Elemente für die unterschiedlichsten Applikationen. Da hier jedoch ein möglichst kleines Element als Umkontaktscheibe gesucht wurde, haben sich die Möglichkeiten auf ein Minimum beschränkt. Umkontakt bedeutet, dass die Kontakte der Elektroden auf eine Seite gezogen wurden, wie in Abbildung 9 zu erkennen (ermöglicht das Anlegen eines Wechselfeldes von einer Seite der Keramik; die abgewandte Seite zeigt in Richtung Medium und ist starr mit der Membran der Kammer verbunden).



Kontaktflächen für das Anlegen des Wechselfeldes

Abbildung 12: Darstellung Umkontaktscheibe [CeramTec]

Die Firma CeramTec bot geeignete Piezoscheiben mit den geforderten Eigenschaften an. Für Ultraschallanwendungen wurden die Materialien SONOX P4 und SONOX P8 entwickelt, welche im Bereich von 20 kHz bis einige MHz einsetzbar sind.[CeramTec] Desweiteren vertragen diese Elemente hohe Steuerspannungen, was für gute Leistungswerte unerlässlich ist. Ein weiterer Vorteil ist die hohe Curietemperaturen, welche für die Klebemontage und der anschließenden Warmhärtung unerlässlich ist.

Da also Erwärmung zu einer thermischen Depolarisation führt, sollte die Betriebstemperatur die Hälfte der angegebenen Curietemperatur nicht überschreiten. Somit ist man durch einen hohen Wert freier in der Anwendung. [CeramTec]

Zum Einsatz kommt also eine Piezoscheibe mit Umkontakt mit einem Durchmesser von 8 mm und einer Dicke von 0,2 mm. In einem weiteren Datenblatt zum Werkstoff SONOX P4 [CeramTec] ist ersichtlich, dass das Element eine höchste zulässige effektive Feldstärke von 1 kV/mm besitzt. Sie bezieht sich auf die Dicke des Elementes und ist wichtig um eine Überbelastung der Keramik zu vermeiden.



Integration in Ultraschallkammer

Für spätere Tests mit dem Medium direkt wurde ein Testmodul aus Polycarbonat gefertigt. In diesem Modul musste eine Mulde für das Piezoelement vorgesehen werden, so dass zwischen Medium und Scheibe nur eine dünne Schicht von 1mm Polycarbonat liegt. Desweiteren musste eine Ultraschallkammer hineingefräst werden, welche ca. 1ml Fassungsvermögen besitzt und für das Pipettieren gut geeignet ist. In Abbildung 11 ist zu sehen, dass Ultraschallkammer und Piezoelement übereinander liegen um eine möglichst optimale Schallausbreitung im Medium zu erreichen.



Abbildung 13: Entwurf Ultraschallkammer als Frästeil aus Polycarbonat

Die Ultraschallkammer mit der darüber liegenden Mulde wurde beim Bessy Berlin gefertigt, da sie auf die Mikroabformung und Mikrofrästechnik die meisten Erfahrungen besitzen. Die Integration des der Piezoscheibe auf das Polycarbonat fand direkt bei ELBAU statt. Dafür wurde der in den Voruntersuchen bestimmt Klebstoff verwendet, welcher dann entsprechend verarbeitet wurde.

Eine weitere Forderung war die Abdichtung der Kammer um einen aussagekräftigen Test mit Flüssigkeit durchführen zu können. Dafür wurde auf die Ultraschallkammer um die Öffnung für die



Lösung ein Ring mittels eines Silikonklebers aufgebracht. Dieser Ring sorgt nach Härtung für einen dichten Verschluss zwischen Ultraschallkammer und Deckel. Für die Deckelung war es wichtig eine Verschlussart zu finden, welche häufiges Öffnen und Schließen ermöglicht. Eine Möglichkeit wäre eine Schraubverbindung gewesen, doch durch häufiges ein- und ausschrauben könnte es zu Beschädigungen des Gewindes kommen. Für spätere Wartungsmaßnahmen und vor allem für Waschvorgänge wäre jedoch genau dies notwendig.



Abbildung 14: Funktionsmuster Ultraschallmodul mit Spannvorrichtung

Man fand daher die Variante eines Spannverschlusses am geeignetsten (siehe Abbildung 14)

Ansteuerung

Als Antrieb der Piezoscheibe wurde eine externe Schaltung entwickelt, welche ein Signal im Ultraschallbereich verstärkt und das Piezoelement so zur Schwingung anregt. Die Frequenz sollte im ersten Aufbau veränderbar sein.

Zur Signalerzeugung wurde somit eine Timerschaltung mit einem 555 aufgebaut und die Frequenzregelbarkeit über die äußere Beschaltung realisiert. Zur Verstärkung dieses Signal werden



spezielle Operationsverstärker für diesen Spannungsbereich verwendet. Ein Operationsverstärker ist als nicht- invertierender und einer als invertierender Verstärker beschalten. Somit wird die Piezokeramik über ein bipolares Signal im Bereich von ±25 V und dem invertierten Signal dazu angesteuert. Dadurch wird ein Betrieb mit 100 V ermöglicht, um die Piezoscheibe zu einer hohen Schwingungsamplitude anzuregen. In Abbildung 3 ist der schaltungstechnische Entwurf erkennbar.



Abbildung 15: Schaltplan der Ansteuerung

Für erste Tests und die Erprobung der Variabilität der Frequenz wurde diese Schaltung nach erfolgreichem Entwurf auf Lochrasterplatte aufgebaut und ist in Abbildung 4 dargestellt. Um die Funktionalität dieser Schaltung zu testen wurden zwei Stromversorgungen erforderlich. Als Testschallgeber wurde eine dieser Piezoscheiben verwendet, welche jedoch nicht in das Zelllysemodul integriert war. Um die Signale überprüfen und die Frequenz einstellen zu können wurde ein Oszilloskop verwendet, welches ebenfalls angeschlossen wurde. In Abbildung 17 ist der Aufbau des Funktionstests ersichtlich





Abbildung 16: Schaltungsaufbau



Abbildung 17: Testaufbau

Anhand des Signalverlaufs auf dem Oszilloskop wurde die Frequenz der Schwingung auf 20 kHz eingestellt. Unterhalb dieser Frequenz war die Schwingung auch hörbar wahrnehmbar. Für die Kühlung der Operationsverstärker wurde eine Aluminiumplatte verwendet, welche jedoch durch geeignete Kühlelemente ersetzt wurde. Um den späteren Test mit dem Zelllysemodul einfacher zu gestalten, wurde das Netzteil mit 15 V für den Betrieb des 555 durch einen Festsspannungsregler



ersetzt. Dieser wird betrieben über die 25 V des anderen Netzteils und wurde ebenfalls auf dieser Lochrasterplatte integriert.

Zur Ermöglichung eines Anwendungstests wurde die Verstärkerschaltung in ein Gehäuse integriert und die benötigten Anschlüsse vorgesehen. Die Veränderung der Frequenz wird möglich über das Öffnen des Gehäuses und der Einstellung über das Potentiometer. Zur Ankopplung des Zelllysemoduls mit der Piezoscheibe wurde eine Anschlussbuchse im Gehäuse integriert. In Abbildung 18 ist das Gehäuse mit der darin befindlichen Schaltung dargestellt.



Abbildung 18: kompaktes Ansteuergerät für den Ultraschallgeber

Für den Test aller Elemente im Zusammenhang und in Bezug auf die Verwendung wurde ein Netzteil mit den entsprechenden Spannungswerten benötigt. Die Ankopplung der Piezoscheibe erfolgte über Anschlussdrähte an den Elektroden der Keramik und einem entsprechenden Stecker für den Gehäuseanschluss. In die Kammer des Zelllysemoduls wird somit eine Lösung mit Bakterienzellen gegeben und über die Spannvorrichtung verschlossen. Durch Ansteuerung der Piezoscheibe wird das Medium beschallt. Der Testaufbau wird in Abbildung 19 ersichtlich.



00-6/10 24/31



Abbildung 19: Aufbau für Anwendungstest

3.3.4 Modul für die DNA-Isolation

Die DNA-Isolation wird benötigt um die DNA von anderen nicht benötigten Zellbestandteilen, welche nach der Zelllyse im Medium frei vorhanden sind, zu trennen. Die wichtigste Eigenschaft ist dabei die negative elektrische Ladung der DNA-Moleküle. So kann über zwei Elektroden ein elektrisches Feld aufgebaut werden, um eine Anziehung der DNA-Stränge zu einer der Elektroden zu erzielen.

Der Aufbau wird ebenfalls über eine Kammer in einem Block aus Polycarbonat realisiert. Die Kammer hat ein ähnliches Volumen wie die des Zelllysemoduls. Als Elektroden werden Platindrähte verwendet. Wichtigstes Kriterium bei der Auswahl eines geeigneten Metalls war die Trägheit in der Reaktion mit Substanzen in der Flüssigkeit. Platin gilt als inert und reagiert somit kaum mit anderen Materialien. Der schematische Aufbau ist in Abbildung 8 dargestellt.





Abbildung 20: Schematischer Aufbau DNA-Isolationsmodul

Der verwendete Platindraht hat einen Durchmesser von 0,5mm und wird in das Trägermaterial dichtend eingeklebt. Die Bohrungen sind zuvor eingebracht worden.

Die Kammer für das Medium muss mittels Deckel dichtend verschlossen werden. Doch auch hier war es wichtig einen Verschluss zu finden, welcher häufiges Öffnen und Schließen ermöglicht ohne das Material zu beschädigen, da nach dem Anlegen der Spannung die DNA an einer der Elektroden ankoppelt und daraufhin Waschvorgänge stattfinden müssen. Durch die Waschvorgänge werden die Zellbestandteile beseitigt, welche nicht an einem der Platindrähte angekoppelt sind und keine weitere Verwendung finden. Daher wird hier der Verschluss wieder über eine Spannvorrichtung realisiert, ähnlich der des Zelllysemoduls.

Für erste Tests wurden an die Platindrähte Anschlüsse vorgesehen um eine Verbindung zu einer Spannungsversorgung zu schaffen. So wird für den Betrieb eine elektrische Feldstärke von ca. 5V/cm benötigt. Da der Abstand der Elektroden in diesem Aufbau 2 cm beträgt, wird eine Spannung von 10 V erforderlich.

Die DNA wird nach den Waschvorgängen wieder entkoppelt. Dazu wird die Spannung abgeschaltet, wodurch die DNA wieder frei im Medium vorhanden ist. Mit Hilfe einer Trägerflüssigkeit können die isolierten DNA-Moleküle aus der Kammer entfernt und weiter verarbeitet werden. Der Aufbau des Testmoduls ist in Abbildung 21 zu sehen.



00-6/10 26/31



Abbildung 21: Aufbau des Moduls für die DNA-Isolation

3.3.5 Detektionseinheit

Zur Definition der Bestandteile und der konstruktiven Auslegung der Detektionseinheit sind Vorversuche durchgeführt worden. Hierzu wurden Proben des Projektpartners ATB verwendet und auf deren Eignung hinsichtlich der Anregungs- und Detektionwellenlänge untersucht.

Die Proben (gelöste DNA) wurden mit dem Farbstoff Sybr[®]Green versehen. Die Anregungswellenlänge wird lt. Datenblatt mit 312 nm angegeben. Das emittierte Licht hat eine Wellenlänge von 525 nm. Der prinzipielle Versuchsaufbau ist in Abbildung 22 dargestellt. Als Detektor kam ein Spektrometer vom Typ USB 2000 zum Einsatz.

Die Anregung der Probe wurde mit einer UV- Lichtquelle durchgeführt. Die ursprünglich geplante breitbandige Lichtquelle in Form einer Halogenlampe führte nicht zum Erfolg.

Im Ergebnis dieser Versuche kann festgehalten werden, dass die emittierte Strahlung visuell sichtbar war und vom Spektrometer mit einer Peakwellenlänge von 525 nm erfasst wurde.

In Auswertung der Ergebnisse mit dem ATB wird für die weitere Auslegung der Nachweisstoffe (Farbstoffe, chem. Reagenzien) nach Farbstoffen gesucht, die von der Anregungswellenlänge den der herkömmlich auf dem Markt verfügbaren LED's entsprechen. Weiterhin soll bei der Auswahl der Fluoreszenzfarbstoffe die gerätspezifische Grenze hinsichtlich der emittierten Wellenlänge Berücksichtigung finden (die Geräte spezifische Grenze liegt bei max. 533 nm).


Abbildung 22: Prinzipieller Aufbau Detektionseinheit

Da die breitbandige Lichtquelle nicht zum Anregen des Sybr[®]Green geeignet war, wurde eine Recherche nach passenden Lichtquellen mit Hinblick auf die Integration in das System durchgeführt. Für die Anregung des bisher eingesetzten Farbstoffes werden spezifische Anregungswellenlängen des Lichtes von 497 nm, alternativ auch von 450 nm, 473 nm, 488nm erfolgen benötigt (siehe Abbildung 23).



Abbildung 23: Absorptions- und Emissionsspektrum von SYBR Green I in Anwesenheit von DNA



Im Ergebnis dieser Recherche wurde eine high power LED gefunden, die einem Wellenlängenbereich von 490 nm – 510 nm abdeckt. Da die Anregung sehr engbandig erfolgen muss, ist eine Selektion der LEDs unabdingbar (Ziel ist die entsprechende Anregungswellenlänge von 487 nm Peak).

Da diese LED auch als Nacktchip vorliegt, bietet sich somit die Möglichkeit der Integration in das Gesamtmodul mit hohem Miniaturisierungsgrad. Folgende Arbeiten sind hierzu geleistet worden:

- Auswahl/ Beschaffung eines Schaltungsträgers für die LEDs (optimale Wärmeabfuhr im Betrieb); als ideal stelle sich ein Standard TO-8 Sockel heraus (siehe Abbildung 24)
- Bestimmung der Anzahl der einzusetzenden LED's (Leistung), die für die Anregung des Fluoreszenzfarbstoffes notwendig sind
- Erarbeitung einer geeigneten Montagetechnik zur optimalen optischen Ankopplung
- Bestimmung des Einflusses des Basismaterials Polycarbonat f
 ür das Fluidiksystem auf das Transmissionsverhalten f
 ür den genannten Wellenl
 ängenbereich (It. Datenblatt Transmission ~ 80% von 400nm bis IR- Bereich)



Abbildung 24: Musteraufbau mit mehreren LED's spezifischer Wellenlänge zur Anregung der in SYBR Green gebundenen DNA

Das im Labormaßstab angewandte Spektrometer soll bei der Integration in das Gesamtmodul durch ein geeignetes Empfängermodul ersetzt werden. Hierzu eignen sich entsprechende Photomultiplier. Bei der Auswahl sind folgende Parameter zu berücksichtigen:

• Wellenlänge des emittierten Lichts



- Bandbreite des zu messenden Lichtes
- Empfindlichkeit des Detektors ("Gain", Spannung des Photomultipliers, spektrale Empfindlichkeit, Peakwellenlänge)
- Integrationszeit der Messung in Hinblick auf den zeitlichen Ablauf der Probenuntersuchung

Das von einem Analog/ Digitalwandler des Multipliers ausgegebene Signal kann durch einen entsprechenden Auswertealgorithmus in eine Häufigkeitsverteilung (d.h. in ein Spektrum der Impulshöhen) umgesetzt und bewertet werden.

Im Ergebnis der Tests zur Anregung mittels des Musteraufbaus beim Projektpartner ATB wurde eine sichtbare Emission festgestellt, wie in Abbildung 11 deutlich zu erkennen ist. Die Erprobung erfolgte mit Vergleichsmedien um die Intensität der Fluoreszenz ersichtlich zu machen. Die LEDs wurden mit Konstantstrom betrieben und in einer abgedunkelten Umgebung zur Anregung des Fluoreszenzfarbstoffs SYBR® Green verwendet.



Abbildung 25: Ergebnis der Anregung mit dem Musteraufbau



3.4 Projektstatus

3.4.1 Zusammenfassende Ergebnisse

Ziel des Projektes war es, ein kompaktes und robustes Nachweissystem für Schaderreger im Waschwasser bei der Erzeugung von Frischeprodukten zu entwickeln.

Nach der gemeinsamen Definition und Spezifikation der erforderlichen Einzelkomponenten wurden diese schrittweise entworfen und aufgebaut. So konnte die Funktionalität der Einzelmodule wie PCR-/ Fluidikchip mit Temperiereinheit, Zelllysemodul, DNA-Isolationsmodul und Detektionseinheit nachgewiesen werden (siehe Ergebnisse der Projektpartner).

Hierzu wurden neben dem Schaltungsdesign der Ansteuerelektroniken für die Temperiereinheit und Ultraschallmodul verschiedene Materialien und Technologien ausgewählt und qualifiziert, die mit Erfolg in einem Prototypen des Sensorsystems umgesetzt wurden.

Weiterhin sind hier die Arbeiten zur Integration (thermische Ankopplung Heizer/ T-Sensor an das PCR-Chip), Medienankopplung (Fluidanbindung für die Einzelmodule/ US-Kopplung der Piezogeber) und Kontaktierungstechniken temperatursensitiver Bauelemente (Curietemperatur Piezokeramik) zu nennen.

Vor einem ersten praktischen Anwendungstest des Verfahrens sind jedoch weitere Studien und Optimierungen erforderlich.

3.4.2 Verwertung der Ergebnisse aus der FuE- Kooperation

Das im Verlaufe des Projektes erworbene know how auf dem Gebiet der biohybriden Sensorsysteme hinsichtlich der Aufbau- und Verbindungstechnologie, Einsatz qualifizierter Materialien mit spezifischen Eigenschaften sowie der Kopplung mit fluidischen Systemen soll für weitere Produkte neu genutzt werden.

Markchancen für neue Produkte werden im Bereichen der Lebensmittelproduktion/-überwachung (in Kombination mit der Strömungssensorik) gesehen. Die Elbau GmbH würde ein Großteil der Fertigung des Sensormoduls als Dienstleister durchführen.

3.4.3 Bekannt gewordene Fortschritte Dritter (FE-Ergebnisse, die für die Durchführung des Vorhabens relevant sind)

In der zurückliegenden Projektlaufzeit wurden keine neuen Ergebnisse von dritter Seite bekannt, die die Entwicklung des geplanten Sensorsystems in seiner vollen Funktionalität beeinflussen.



3.4.4 Veröffentlichung der Projektergebnisse

Publikationen durch den Projektpartner ATB.

Teilprojekt 2.3 "Modulares intelligentes System zur durchgängigen Qualitätskontrolle in der Logistikkette von pflanzlichen Frischeprodukten"

Berichterstatter: Manfred Linke

Teil I Kurzdarstellung

I.1. Aufgabenstellung

Das Ziel des geplanten Projektes bestand vorrangig darin, durch die Anwendung innovativer Technologien im Nacherntebereich von Obst und Gemüse einen Beitrag zur Verbesserung der Nachhaltigkeit in der Wertschöpfungskette zu leisten. Durch die Bereitstellung von zusätzlichen Informationen zum Produktzustand an ausgewählten Kontrollpunkten in der Nacherntekette soll gewährleistet werden, dass die beteiligten Akteure (Erzeuger, verschiedene Händler, Verbraucher) mit ihren speziellen Möglichkeiten mehr Einfluss auf die Qualitätssicherung nehmen können.

Vorrausetzung dafür ist, dass zeitnah entsprechende Informationen über den aktuellen Produktzustand bereitgestellt werden können. Die Informationen zum Produktzustand müssen für die handelnden Personen einfach verständlich, inhaltlich zweifelsfrei und leicht zugänglich sein. Als Maß für den Produktzustand wird die Resthaltbarkeit (bis zum Erreichen von Vermarktungs- bzw. Verderbgrenzen) verwendet. Die Resthaltbarkeit wird auf der Grundlage von Haltbarkeitsvorhersagemodellen, die sich ausschließlich am menschlichen Wahrnehmungsvermögen orientieren, ermittelt.

An jedem Punkt der Nacherntekette ist die Rückverfolgbarkeit der bis dahin vorhandenen fixen und variablen Informationen zu gewährleisten, so dass im Schadensfall die Ursachen für den Verderb einer Partie ermittelt werden können.

Die Komponenten des zu entwickelnden Systems (Hardware, Software) sind so zu gestalten, dass sie mit möglichst geringen Aufwendungen in bestehende Strukturen integriert werden können.

I.2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Die Nacherntekette von Obst und Gemüse ist dadurch gekennzeichnet, dass uneinheitliche Strukturen mit z.T. mehrfach wechselnden Verantwortlichkeiten für das Produkt und unterschiedliche Interessenlagen der beteiligten Akteure vorhanden sind (Geyer & Müller 2005). Die kleinste zu überwachende Verpackungseinheit ist eine einzelne Umverpackung (z.B. 6 kg Kirschen im Pappkarton), deren direkte Kontrolle mit einem Sensor z.Z. aus wirtschaftlichen Gründen nicht realisierbar ist. Alle in der Kette handelnden Akteure haben mehr oder weniger komplexe, rechnergestützte Kontroll- und Abrechnungssysteme, die im Normalfall die gesetzlichen Anforderungen an die Produktqualität erfüllen. Neue Lösungen müssen sich funktional abheben und so offen gestaltet sein, dass sie in bestehende Lösungen eingepasst werden können.

I.3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Das gesamte Vorhaben wurde ursprünglich in 18 Arbeitspaketen (AP) umgesetzt, die unter 3 beteiligten Kooperationspartnern verteilt wurden. Die Arbeitspakete wurden während des Ablaufs an technologische Entwicklungen angepasst. Alle Untersuchungen wurden innerhalb des vorgesehenen Zeitraums von 36 Monaten durchgeführt (s. Antrag).

I.4. wissenschaftlich-technischer Stand

Gartenbauliche Frischmarktprodukte sind aus den verschiedensten Gründen entlang der gesamten Wertschöpfungskette besonders empfindlich gegen Qualitätsverluste. Sie bestehen aus lebenden Zellverbänden, welche die während der Vegetationsperiode angesammelten Speicherstoffe in Abhängigkeit von den Umgebungsbedingungen nach der Ernte mehr oder weniger schnell abbauen. In einem Wettlauf mit der Zeit gehen für die menschliche Ernährung wichtige Komponenten verloren, lange bevor äußerlich wahrnehmbare Anzeichen (Verfärbungen, Weichwerden) die Vermarktungsfähigkeit einschränken oder das Erreichen einer Verderbgrenze signalisieren. Im Sinne einer nachhaltigen Produktion sind diese Verluste eng verbunden mit den Aufwendungen für die Produktion. Energetische Aufwendungen, Wasserverbrauch, Dünge- und Pflanzenschutzmittel, Aufwendungen für die Produktion von Verpackungen können in dem Maße minimiert werden, wie der Verderb von Produkten im Nacherntebereich eingeschränkt werden kann.

In internationalen Studien wird davon ausgegangen, dass bis zu einem Drittel der angebauten Produkte durch unsachgemäßes Handling nach der Ernte verderben, bevor Sie den Verbraucher erreichen (Kader 2003). Selbst in sehr effizient arbeitenden Ketten in den Niederlanden sind Verluste von mehr als 10% vorhanden (Van Uffelen *et al.* 2004). In den Entwicklungsländern erreichen nach einer FAO-Studie lediglich 50-80% des erzeugten Obst- und Gemüsesortiments die Verbraucher (FAO Bulletin 149 2003).

In Deutschland (in der EU) sind verschiedene Kontrollstrategien auf unterschiedlichen Ebenen, in unterschiedlichen Verantwortlichkeiten existent. Die Einhaltung gesetzlicher Mindestanforderungen (EU-Richtlinien) wird durch staatliche Qualitätskontrolleure der Länder überprüft. Einzelne Handelsketten betreiben die Entwicklung von Eigenmarken mit speziellen Anforderungen an die Qualität. Insbesondere im Biobereich sind freiwillige Kontrollmechanismen durch Verbände eingeführt worden. Diese Qualitätskontrollen werden überwiegend auf der Grundlage subjektiver Einschätzungen vorgenommen, die oft auch durch stationäre und/oder mobile Temperaturüberwachung/ -aufzeichnung gestützt werden. Insbesondere längere Lkw-Transporte (z.B. aus Südeuropa) werden häufig temperaturüberwacht. Mit Hilfe der inzwischen verbreiteten Satellitennavigation stehen den Disponenten auch örtliche und zeitliche Informationen über den Transportablauf zur Verfügung, die zeitnah eine, wenn auch grobe Einschätzung der thermischen Belastung des Produktes ermöglichen. Die Zuverlässigkeit der Temperaturinformation und die Gültigkeit für die gesamte Lkw-Ladung muss allerdings angezweifelt werden, wenn die Aussage, wie allgemein üblich, auf der Basis von lediglich einem Temperatursensor vorgenommen wird. Durch die Luftführung der Kälteanlage zwangsläufig vorhandene, örtliche Temperaturunterschiede (wie im Rahmen dieser Arbeit gemessenen 6-8°C, siehe auch II/1.1.1.4) bleiben völlig unberücksichtigt.

Nach Erkenntnissen aus umfangreichen, eigenen Vorarbeiten im Rahmen eines vom Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz geförderten Vorhabens (Linke & Butenuth 2006) treten wesentliche Produktbelastungen beim Produzenten und während der Präsentationsphase auf. Partiell waren auch bei Transporten hohe Belastungen zu beobachten. Durch mehr oder weniger Technikeinsatz in der Nacherntekette (Vorkühlung, Kühltransporte, Verpackungen und Umverpackungen) kann Einfluss auf die Erhaltung der Produktqualität genommen werden. Die Einzelhandelsunternehmen verfolgen unterschiedliche Präsentationsstrategien. So sind von Marktständen bei Raumtemperaturen über ungekühlte Möbel mit Marktcharakter, gekühlte Möbel bis hin zu Verkaufskühlmöbeln mit zusätzlicher Luftbefeuchtung stark unterschiedliche Bedingungen anzutreffen, die differenzierte Haltbarkeiten der Produkte zur Folge haben.

Auch hinsichtlich des Messtechnikeinsatzes sind unterschiedliche Systeme kommerziell verfügbar, die für die Bewertung der klimatischen Nacherntebelastung herangezogen werden. Die Palette reicht hier von einfachen Thermometern über einfache Temperatur-/Luftfeuchteschreiber bis hin zu Datenloggersystemen, die zusätzlich auch Raumluftfeuchtemessungen im Normalfeuchtebereich (zuverlässig nur bis max. 80%rF) messen und ggf. auch aufzeichnen. Grundsätzlich ist dazu zu bemerken, dass es sich fast ausschließlich um Einzelmessungen handelt, deren Gültigkeit auch für größere Produktpartien (bei Transporten, im Großhandelslager, im Einzelhandelslager) angenommen wird. Unterschiede in der thermischen Belastung führen z.T. zu erheblichen Inhaltsstoffverlusten, die in der Regel weder von den in der Kette handelnden Personen noch vom Endverbraucher bemerkt werden. Nur sichtbare und/oder fühlbare Veränderungen (Verfärbungen, Konsistenz) der Produkte, die erst auftreten, wenn viele für die menschliche Ernährung bedeutsame Inhaltsstoffe bereits verloren gegangen sind, führen zu einem Totalverlust der Ware. In der Abbildung 1 ist dieser Zusammenhang für den Nacherntebereich schematisiert unter der Annahme einer linearen Qualitätsveränderung dargestellt. Zum Erntezeitpunkt (0) unterscheiden sich die effektive (innere) und die sichtbare/fühlbare (äußere) Qualität. Während sich die äußere Qualität über einen gewissen Zeitraum nur sehr wenig verändert, kann sich die innere Qualität (produktabhängig, klimaabhängig) dramatisch verschlechtern. Beginnend mit dem Zeitpunkt A werden diese Veränderungen sichtbar/fühlbar und erreichen irgendwann die Vermarktungsgrenze zum Zeitpunkt B.



Abb. 1: Zusammenhang zwischen Vermarktungsfähigkeit, effektiver und sichtbarer Qualität

Seit einigen Jahren werden in verschiedenen Bereichen passive und aktive RFID-Tags (Radio-Frequency-Identification-Tags bzw. Transponder) zu Kontrollzwecken eingesetzt. Mit den aktiven Versionen können Temperaturverläufe, Maximal-, Minimalwerte und Grenzwertüberschreitungen aufgezeichnet werden. Zusätzlich besteht die Möglichkeit, Textinformationen für die Rückverfolgbarkeit zu transportieren. Eigene Untersuchungen mit RFID's in der Nacherntekette von Obst und Gemüse (Linke *et al.* 2007) zeigen, dass diese wegen ihrer begrenzten Lebensdauer der Batterie und hohen Kosten z.Z. für den notwendigen Einsatz in Umverpackungen für Obst und Gemüse noch nicht wirtschaftlich einsetzbar sind.

Neben der thermischen Nacherntebelastung kommt dem Wasserzustand der Produkte eine wichtige Bedeutung zu. Wasserverluste können in grobem Maßstab direkt über Differenzwägungen kontrolliert werden. Diese Aussage ist jedoch relativ unzuverlässig, da das genaue Anfangsgewicht meist nicht bekannt ist. Indirekt könnten Wasserverluste nur über die wichtigsten Komponenten des Stoffüberganges (Luftfeuchte und Luftströmung) bestimmt werden. Hiezu sind keine entsprechend geeigneten Messmittel kommerziell verfügbar. Luftfeuchtemessungen allein sind beispielsweise nicht ausreichend, um Veränderungen des Wasserzustandes zu beschreiben. Für wissenschaftliche Untersuchungen können beispielsweise Verdunstungsmesszellen eingesetzt werden (Linke *et al.* 2008), die jedoch kein elektrisches Ausgangssignal liefern.

Die Vorhersage der Haltbarkeit von gartenbaulichen Produkten in der Nachernte wurde im Rahmen von vielen wissenschaftlichen Arbeiten untersucht (u.a. Tijskens *et al.* 2001). Wichtigstes Kriterium für die Haltbarkeit ist die thermische Belastung in der Nachernte, d.h. Temperatur und Zeit sind die Parameter, die den Abbau/Umbau von Inhaltsstoffen maßgeblich beeinflussen. Haltbarkeitsvorhersagemodelle auf unterschiedlichem Niveau existieren für zahlreiche Produktarten. Wenn auf vorhandene Modelle zurückgegriffen wird, ist in der Regel immer zu überprüfen, ob die Randbedingungen (Sorte, Vorerntebedingungen, ...) akzeptabel sind.

I.5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Das Teilprojekt wurde in arbeitsteiliger Zusammenarbeit mit der ESYS GmbH, Berlin bearbeitet. Durch ESYS erfolgte die Hardwareentwicklung und die hardwarenahe Programmentwicklung. Als Unterauftragnehmer, insbesondere für die Auswahl und Prüfung der zum Einsatz kommenden Sensoren, fungierte die Bundesanstalt für Materialprüfung, Berlin (BAM).

II. Eingehende Darstellung

II.1. Erzielte Ergebnisse

II.1.1. Grundlagen für das modulare Kontroll- und Steuerungssystem

Die Qualität von gartenbaulichen Produkten ist eine komplexe Kenngröße, die sich aus vielen einzelnen Produkteigenschaften zusammensetzt. Dies ist auch der wesentliche Grund dafür, dass es bisher erhebliche Probleme bereitet, Qualität objektiv mit vertretbarem Aufwand zu messen bzw. einen gesamtheitlichen Qualitätszustand zu beschreiben. Zum jetzigen Zeitpunkt existiert weder national noch international eine einheitliche Qualitätsdefinition.

Eigene Arbeiten gehen davon aus, dass Qualitätsverluste im Verlauf der Nachernteperiode durch den (vorrangig temperaturabhängigen) Abbau von Inhaltsstoffen und/oder durch Transpiration auftreten können (Linke *et al.* 2003). Dementsprechend werden zwei Grenzwerte für die Verkaufsfähigkeit der Produkte eingeführt. In Abhängigkeit vom Produkt und den Klimabedingungen nach der Ernte wird entweder der Grenzwert für den Inhaltsstoffabbau (Grenzwert 2) oder der Grenzwert für den Wasserverlust (Grenzwert 1) zuerst erreicht und damit wirksam (Abb. 2).



time after harvest ====>>

Abb. 2: Grenzwerte für die Frischhaltung von Obst und Gemüse und Einfluss der Verpackung

Ob zuerst der Grenzwert 1 oder der Grenzwert 2 erreicht wird, hängt vorrangig von den Umgebungsbedingungen ab, charakterisiert durch den Grenzschichtwiderstand bzw. durch die Stoffübergangsbedingungen. Der Stoffübergang ist in erster Linie eine Funktion der An- und Umströmungsbedingungen und der Luftfeuchte in ausreichender Entfernung zum Produkt. Als Grenzwerte für Qualitätsveränderungen der Produkte werden sicht- oder fühlbare äußere Kriterien verwendet, die sowohl die in der Kette handelnden Personen als auch die Verbraucher zum Zeitpunkt der Kaufentscheidung in gewissem Umfang kontrollieren können.

Für den Wasserverlust wird dieser durch Glanzverlust und durch Schrumpfungserscheinungen der ansonsten glatten Oberfläche spürbar.

Als Grenzwert für den Inhaltsstoffabbau werden Veränderungen der Farbe und/oder der Konsistenz/Festigkeit der Produkte verwendet. Prinzipiell würde es bei so gelagerten Versuchen ausreichen, Temperatur, Zeit und Zeitpunkt des Verderbs zu erfassen. Qualitativ bessere Ergebnisse können jedoch erreicht werden, wenn der Grenzwert auf der Grundlage der Produktatmung ermittelt wird. Wegen der nichtlinearen Temperaturabhängigkeit interner Abbauprozesse (integrativ durch die Messung der Atmungsrate zu erfassen) ist es jedoch ein Unterschied, ob ein Produkt z.B. 10 h bei 20°C oder 20 h bei 10°C aufbewahrt wurde (jeweils 200 Gradstunden). Es ist von Fall zu Fall abzuwägen, ob der zusätzliche Aufwand betrieben werden muss, weil die Auswirkungen bei den einzelnen Produktarten stark differieren. Die nachfolgende Übersicht zeigt die Unterschiede beispielhaft für einige ausgewählte Produktarten.

Produkt	Thermische Belastung	CO ₂ Abgabe	CO ₂ Abgabe
Gurke Brokkoli Tomate	[Kh Gradstunden] 200 200 200	10 h x 20°C [mg/kg] 240 1600 220	20 h x 10°C [mg/kg] 300 860 160

Tabelle 1: Abweichende Auswirkungen von thermischer Belastung und (temperaturabhängiger) Atmung auf die Haltbarkeit bei einigen ausgewählten Produktarten

Es wird vorausgesetzt, dass die Gesamtheit der Inhaltsstoffveränderungen in der Nachernte hinreichend genau durch die Veränderung der temperaturabhängigen Atmungsintensität beschrieben werden kann. Damit besteht die Möglichkeit, den Abbau von Inhaltsstoffen – die den Gesundheitswert eines Produktes wiederspiegeln – über die vom Produkt aufgenommenen Temperatursummen zu kontrollieren.

Mit dem oben beschriebenen Ansatz besteht prinzipiell die Möglichkeit, Qualitätsveränderungen in der Nacherntekette von gartenbaulichen Produkten durch die Aufzeichnung der Temperatur und des Wasserzustandes zu kontrollieren. Die Aufzeichnung der thermischen Belastung (Lufttemperatur, Zeit) unter praktischen Bedingungen ist unproblematisch. Für die Überwachung der wasserseitigen Produktveränderungen auf dem Weg vom Erzeuger zum Verbraucher sind derzeitig keine praktikablen Lösungen verfügbar. Eine einfache Kontrolle über Gewichtsveränderungen (Schwund) von Verpackungseinheiten ist prinzipiell möglich, wenn aufeinander abgeglichene Wiegeeinrichtungen verwendet werden können. Eine solche Lösung lässt jedoch viele Manipulationsmöglichkeiten über die Zugabe oder Entfernung von Produktanteilen zu, je nach Interessenlage der handelnden Personen. Außerdem sind Fehlmessungen infolge von physikalisch bedingten Prozessen (Kondensation in Verpackungen, Wasserabsorption der Verpackung, ...) bei wechselnden Umgebungsbedingungen (Temperatur, Luftfeuchte, Luftströmung) nicht auszuschließen. So können sich z.B. nach eigenen Messungen in einer 6 kg-Verpackung mit Süßkirschen zeitweilig bis zu 100 g freies Kondenswasser befinden. Indirekte Messungen der Veränderung des Wasserzustandes über die Erfassung der Umgebungsbedingungen sind wegen der komplizierten Strömungsbedingungen praktisch nicht möglich.

Aus den genannten Gründen wurde für das vorliegende Projekt eine Beschränkung laut Aufgabenstellung auf die Überwachung der thermischen Belastung der Produkte vorgenommen. Es wird zunächst vorausgesetzt, dass die Verderbgrenze für den Wasserverlust (Abb. 2) nicht erreicht wird. Dies ist praktisch bei weniger transpirationsempfindlichen Produkten (Tomate, Apfel) oder bei Produkten mit künstlichem Transpirationsschutz (Verpackung, Folie) der Fall. Nur diese Produktgruppen können mit dem entwickelten System überwacht werden.

Für die Bestimmung der Resthaltbarkeit ist die Kenntnis von Verderb-/Vermarktungsgrenzen erforderlich. Falls diese Angaben nicht bekannt sind, müssen entsprechende Untersuchungen zur Ermittlung der Verderbgrenzen vorgenommen werden, d.h. die ausgewählten sichtoder fühlbaren äußeren Qualitätskriterien sind in Abhängigkeit von der thermischen Belastung zu bestimmen. Solche Qualitätskriterien sind in den meisten Fällen die Farbe und die Konsistenz (Elastizität des äußeren Abschlussgewebes). Für die Untersuchungen zum Nachernteverhalten von Obst und Gemüse, die im Rahmen von Nacherntesimulationen unter Laborbedingungen vorgenommen werden, wird frisch geerntetes Produkt benötigt, dessen Vorernteparameter (Düngung, Bewässerung, Schädlingsbekämpfungs-, Pflanzenstärkungsmittel) nach Möglichkeit bekannt sein sollten.

I.1.1.1. Nacherntesimulationen unter Laborbedingungen

Für die Ermittlung der Verderbkinetiken ist eine bestimmte Produktmenge bei unterschiedlichen Temperaturen innerhalb eines möglichen Temperaturbereiches (z.B. 0°C-25°C) bis zum Erreichen einer Verderbgrenze aufzubewahren. Dazu wird eine entsprechende Produktmenge bekannter Herkunft (Erzeuger, Sorte, Qualitätsklasse, Erntetermin, Vorerntebelastungen, ...) innerhalb einer Nacherntesimulation möglichst praxisnahen Bedingungen (Verpackung, Verweilzeiten, Temperaturwechsel,) ausgesetzt.

Zur Charakterisierung des Anfangszustandes wird eine Referenzmessung (z.T. mit zerstörenden Messverfahren) durchgeführt. Nach einem bestimmten Zeitregime werden die Veränderungen ausgewählter Qualitätsparameter während der Aufbewahrung der jeweiligen Chargen bei unterschiedlichen Temperaturen mit zerstörungsfreien Messverfahren ermittelt. Dabei gilt die Prämisse, dass das Produkt durch die Messung möglichst wenig zu beeinflussen ist.

In Abhängigkeit von den zu untersuchenden Produktarten können unterschiedliche Produkteigenschaften von Interesse sein. Deshalb werden nachfolgend für die einbezogenen Produktarten Gurke, Brokkoli und Tomate gesonderte Angaben erforderlich.

I.1.1.1.1. Produkteigenschaften und Verderbgrenzen bei Gurken

Die Bestimmung der erforderlichen Informationen und die zu beachtenden Randbedingungen werden in dieser Arbeit am Beispiel der Produktart Gurke ausführlich erläutert. Es ist davon auszugehen, dass bei anderen Produktarten ähnliche Überlegungen und Vorgehensweisen notwendig sein werden.

Bei Gurken wird die Tatsache, dass Farbveränderungen (von grün nach gelb) Inhaltsstoffabbau signalisieren als Verderbgrenze genutzt. Bei Einhaltung von normalen Anforderungen an den Transpirationsschutz (im Wesentlichen durch die Verpackung gewährleistet) kann davon ausgegangen werden, dass der temperaturabhängige Grenzwert für Inhaltsstoffverluste zu einem früheren Zeitpunkt erreicht wird. Es ist außerdem zu beachten, dass keine starken Ethylenproduzenten in der Nähe der Gurken aufbewahrt/präsentiert werden, weil zu hohe Ethylengehalte in der Umgebungsluft ebenfalls Gelbverfärbungen beschleunigen.

Die Bestimmung der Verderbgrenzen (Grenzwert für die Vermarktungsfähigkeit) erfolgte im Rahmen eines Verbrauchertests. In Vorbereitung dieses Tests wurden 16 Gurken der Sorte, die auch in der Nacherntesimulation untersucht werden soll, unterschiedlichen klimatischen Belastungen über differenzierte Zeiträume ausgesetzt, so dass zum Testtermin Früchte mit unterschiedlicher Ausfärbung (von erntefrisch dunkelgrün bis verdorben gelb) vorhanden waren. Die vorhandene Produktpalette wird objektiv gemessen. Im vorhandenen Fall wurden dazu Messungen direkt mit einem kommerziell verfügbaren Farbmessgerät (CM-2600d, Minolta Co. Ltd., Japan) und indirekt über Fotoaufnahmen der Gurken unter definierten Lichtverhältnissen und anschließender Bildauswertung durchgeführt. Für die Bildauswertung kam eine professionelle Software (Sigma Scan Pro 5.0, SPSS Science) zum Einsatz. Als geeignetes Farbsystem wurde basierend auf Literaturrecherchen das L*a*b*-System ausgewählt. Als relevanter Parameter für den zu erwartenden Farbumschlag wurde das Verhältnis -a*/b* ausgehend von Arbeiten externer Autoren (Schouten *et al.* 2002) verwendet, d.h. der zu ermittelnde Grenzwert für die Vermarktungsfähigkeit wird als Verhältnis -a*/b* ausgedrückt.

Zum Testtermin wurden die Gurken 27 Personen, denen die objektiv ermittelten Farbwerte nicht bekannt waren (im Rahmen eines Verbrauchertests) zur subjektiven Beurteilung (ja/nein Entscheidung) vorgelegt. Im Ergebnis dieses Tests wurde ein Grenzwert für die Vermarktungsfähigkeit der Gurken von $-a^*/b^* = 0,45$ bestimmt (Gurken mit Werten $\leq 0,45$ haben eine Resthaltbarkeit von 0 Stunden (Tagen).

Zur Bestimmung des Nachernteverhaltens der Gurken wurden im Rahmen des Teilprojektes größere Nacherntesimulationen unter Laborbedingungen (20 Kartons mit je 12 Gurken a 500-600 g, Sorte Bornand) durchgeführt. Die Früchte wurden unmittelbar nach der Ernte vom einem lokal ansässigen Erzeuger (Fontana Gartenbau GmbH, Manschnow) übernommen und unter kontrollierten Bedingungen (Temperatur, Luftfeuchte) in speziellen, isolierten Containern zum ATB transportiert. Im Nacherntezeitraum wurden je 3 Kartons mit Gurken unterschiedlichen, klimatischen Bedingungen ausgesetzt. Pro Karton wurden 4 Messgurken (2 obere Lage, 2 untere Lage) gekennzeichnet und eingemessen. Die Veränderung wichtiger Produkteigenschaften (Atmung und Transpiration, Elastizität, Farbe (Minolta und Foto)) dieser Messgurken wurde in Ein- bzw. Zweitagesintervallen über den Versuchszeitraum von ca. 3 Wochen bei 10, 15 und 20°C zerstörungsfrei gemessen. Durch die Variation der Verpackungen (handelsüblicher Karton offen oder geschlossen, Gurken in oberer bzw. unterer Lage) sollte zusätzlich der Einfluss von leichten Wasserverlusten kontrolliert werden.

In der Abbildung 3 sind am Beispiel von 4 Messgurken eines Kartons, aufbewahrt bei ca. 20°C, visuell sichtbare und gemessene Farbinformationen gegenübergestellt.



Abb. 3: Farbumschlag bei Gurken – Bestimmung des Grenzwertes für die Vermarktungsfähigkeit

Abbildung 4 zeigt die gemessenen Verfärbungen (von grün nach gelb) und die Grenzwertunterschreitungen bei den Nacherntesimulationen. Die rote Verlaufslinie repräsentiert die Mittelwerte aller in die Untersuchungen einbezogenen Kartons. Die Grenzwerte für die Vermarktungsfähigkeit werden nach 5,5 Tagen bei 20°C, nach 8,5 bei 15°C bzw. nach 8,0 Tagen bei 10°C erreicht.

Das Ziel der Untersuchungen bestand darin, bekannte, frei verfügbare Verderbkinetiken (Verderbkriterium = f(Temperatur, Zeit)) externer Autoren (mit mindestens 8-10 Temperaturstufen) auf ihre Eignung in eigenen Haltbarkeitsvorhersagemodellen (insbesondere hinsichtlich Sortenunterschieden) zu überprüfen. Insbesondere wegen begrenzter Laborkapazitäten (Kühlräume) konnten nur 3 Temperaturstufen in die eigenen Untersuchungen aufgenommen werden.



Abb. 4: Farbveränderung und Grenzwertunterschreitungen von Gurken in handelsüblichen Verpackungen bei unterschiedlichen Temperaturen. Die rote Linie ist der Mittelwert aus 3 x 4 Messgurken.

Zur Bestimmung der Resthaltbarkeit von Salatgurken wurden Untersuchungen der Universität von Kalifornien Davis (Cantwell 2005), gestützt durch eigene Messungen bei 3 mittleren Temperaturen genutzt (Abb. 5).



Abb. 5: Zeit bis zum Beginn sichtbarer Vergilbung von Salatgurke in Abhängigkeit von der Temperatur

Die in der angeführten Quelle angegebene relative Aufbewahrungszeit (in %) wird auf eine maximale Haltbarkeit von 10 Tagen bei 12°C bezogen (eigene Recherchen).

Die in der Abbildung 5 dargestellte Verteilung resultiert einerseits aus der bekannten Kälteempfindlichkeit von Salatgurken bei Temperaturen unter 10°C (siehe weiter unten) und zum anderen aus den durch die thermische Belastung bedingten Stoffwechselaktivitäten. In Abhängigkeit von der mittleren Temperatur in der Nachernte wird die Haltbarkeit (bis zum Einsetzen des Gelbwerdens) aufgezeigt. Davon ausgehend wird das (mathematische) Produkt aus Temperatur und Zeit errechnet, das die thermische Belastung in Gradstunden darstellt.

Die Ergebnisse der eigenen Messungen in der Nacherntesimulation bei 3 Temperaturstufen weichen nur geringfügig (ca. 0,5 Tage, vergleiche auch Abb. 6) von dem in Abbildung 5 dargestellten Verlauf mit 8 Stützwerten ab. Die Werte können dementsprechend als Grundlage für die Ermittlung der Resthaltbarkeit von Salatgurken Verwendung finden.

Der Zusammenhang zwischen thermischer Belastung (Zielgröße) und Temperatur (Einflussgröße) wird über eine Regressionsrechnung ermittelt, deren Beziehung zur Berechung der Resthaltbarkeit von Salatgurken auf der Grundlage eines linearen Qualitätsänderungsansatzes in verschiedenen Abschnitten entlang der realen Nacherntekette herangezogen wird.



Abb. 6: Zusammenhang für die Ermittlung der Vermarktungsgrenze bei Salatgurken (in Tagen) in Abhängigkeit von der Temperatur, grüne Balken ... eigene Messungen

Abbildung 6 zeigt den mit TableCurve2d (Systat Software Inc., San Jose, CA, USA) ermittelten Zusammenhang zwischen Haltbarkeit (y-Achse in Tagen) und mittlerer Produkttemperatur (x-Achse in °C) sowie die Regressionsgleichung und die Regressionskoeffizienten (a-f). Die eingezeichneten Balken bei 10, 15 und 20°C stellen nochmals die im Rahmen der Nacherntesimulation ermittelten Zeitspannen bis zum Erreichen sichtbarer Vergilbung dar. Die Gleichung wird zur Bestimmung des Grenzwertes im Haltbarkeitsvorhersagemodell hinterlegt.

Bei einigen Produktarten (u.a. Gurken) sind Einschränkungen des Gültigkeitsbereiches wegen bekannter Kälteempfindlichkeit der Produkte zu beachten. Bei Temperaturunterschreitungen (bei Gurke <10°C) treten in der Regel abnormale äußerliche und innere Veränderungen (Glasigkeit, Konsistenzveränderungen, ...) auf, die zu beschleunigtem Verderb führen. Das eigentliche Problem hierbei besteht darin, dass Dauer und Größenordnung der Temperaturunterschreitung differenzierte Auswirkungen hervorrufen können. Beispielsweise können kurzzeitige tiefe Temperaturen geringere negative Effekte haben als längerandauernde kleine Unterschreitungen des Temperaturgrenzwertes. Hinzu kommt, dass einige insbesondere neuere Gurkensorten nicht mehr ganz so kälteempfindlich sind (z.B. Temperaturgrenze <6°C). Im Zweifelsfall sind entsprechende Voruntersuchungen erforderlich, wenn das konkrete Verhalten des Produktes nicht bekannt ist.

II.1.1.1.2. Weitere Produktarten

<u>Brokkoli</u>

Nach einem vergleichsweise ähnlichen Verfahren (wie oben für Gurke beschrieben) wurde die Beziehung zwischen Haltbarkeit und thermischer Nacherntebelastung (Temperatursumme) für Brokkoli ermittelt. Im Gegensatz zu Gurken ist Brokkoli nicht kälteempfindlich, so dass hier die höchste Haltbarkeit bei der tiefstmöglichen Temperatur (nahe 0°C) zu erwarten ist. Wegen der höheren Transpirationsempfindlichkeit von Brokkoli, wurde die Nacherntesi-

mulation mit einer handelsüblichen Folienverpackung (Stretchfolie) durchgeführt, d.h. dass alle Aussagen im Rahmen der Nacherntesimulation auch nur für Brokkoli in Strechfolie Gültigkeit haben.

Als Verderbkriterium wurde wie bei Gurken die Farbänderung von grün nach gelb verwendet. Wie bei Gurken wurden auch hier Vorarbeiten externer Autoren (Cantwell 2005) genutzt, um die eigenen Versuchsaufwendungen zu begrenzen. Abbildung 7 zeigt die Ausgangswerte für die Berechnung der Haltbarkeitsgrenzen. Eigene Simulationen bei 3°C, bei 10°C und bei 20°C zeigten ausreichend genaue Übereinstimmung diesen Angaben.



Abb. 7: Zeit bis zum Beginn sichtbarer Vergilbungserscheinungen von Brokkoli in Abhängigkeit von der Temperatur

Aus dem Produkt von Zeit (Ernte bis zum Einsetzen sichtbarer Vergilbungserscheinungen) und Temperatur wird der Grenzwert für die thermische Belastung errechnet. Zu beachten ist hier, dass der Wert bei 0°C mit 1°C gerechnet wird, da ansonsten die Methode nicht durchgehend genutzt werden könnte (Multiplikation mit 0 gibt 0).

In der Abbildung 8 sind die der Regressionsanalyse zu Grunde liegenden Werte für die Vermarktungsfähigkeit (thermische Belastung und Temperatur) dargestellt. Die Regressionsgleichung wird zur Bestimmung des aktuellen Grenzwertes im Haltbarkeitsvorhersagemodell hinterlegt.



<u>Tomate</u>

Die Beziehung zwischen Haltbarkeit und thermischer Nacherntebelastung (Temperatursumme) für Tomaten wurde ausschließlich auf eigenen Messungen basierend ermittelt. Dazu wurden mehrere Versuchsserien (z.T. aus zurückliegenden Jahren) herangezogen. Tomaten verfügen über einen ausreichenden natürlichen Transpirationsschutz, so dass keine zusätzlichen Vorkehrungen (Folien o.ä.) bezüglich Wasserverlusten getroffen werden müssen.

Als Verderbkriterien kommen prinzipiell Farb- und/oder Konsistenzveränderungen in Frage. Im Verlauf des Reifeprozesses (teilweise auch nach der Ernte) erfolgt ein deutlicher Farbumschlag von grün nach rot. Im Gegensatz zum angelsächsischen Sprachraum (grüne Tomaten) werden in Deutschland Tomaten im vollreifen Zustand (rote Ausfärbung) vermarktet. Da die Verfärbung in dieser Entwicklungsphase von rot nach tiefrot nicht so stark ausgeprägt ist, wurde bei Tomaten die Textur als Verderbkriterium ausgewählt.

Die Verderbgrenze bei gesunden, normal entwickelten Tomaten ist erreicht, wenn die vollreifen Früchte (z.B. tiefrot - Reifegrad 7) infolge des Abbaus/Umbaus von Speicherstoffen zu weich werden. Objektiv kann diese Eigenschaft mit einer Werkzeugprüfmaschine (Zwicki 1120, Fa. Zwick, Ulm, D) quasi zerstörungsfrei als Elastizität des äußeren Abschlussgewebes (Young's modulus) gemessen werden. Dazu wird mit einer Stahlkugel mit 6,3 mm Durchmesser eine definierte, voreingestellte Kraft an der Produktoberfläche aufgebracht, ohne die Frucht nachhaltig zu beschädigen. Die pro Längeneinheit aufgewendete Kraft (in N/mm) ist ein Maß für die Elastizität des Gewebes.

Im Rahmen eines Verbrauchertests mit 39 Personen wurde für mittelgroße runde Tomaten mit glatter Oberfläche ein Grenzwert für die Vermarktungsfähigkeit von 1,0 N/mm ermittelt. Dazu wurden 40 unterschiedlich thermisch belastete Früchte zum Testtermin den Proban-

den, denen die objektiv ermittelten Festigkeitswerte nicht bekannt waren, zur subjektiven Beurteilung (ja/nein Entscheidung) vorgelegt.

Bei Tomaten ist eine vergleichsweise große Sortenvielfalt am Markt vorhanden. Aus diesem Grund wurden in einer weiteren Versuchsserie die relevanten Produkteigenschaften von großen Gemüsetomaten (Sorte Clarance) untersucht. Der für diese Früchte ermittelte Grenzwert für die Vermarktungsfähigkeit lag bei 1,6 N/mm. In der Abbildung 9 sind beispielhaft die Werte für die thermische Belastung und die Temperatur, die die ermittelten Grenzwerte für die Vermarktungsfähigkeit repräsentieren, dargestellt.

Die auf diesen Daten basierende Regressionsgleichung wird im Haltbarkeitsvorhersagemodell eingestellt. Bei Tomaten wird deutlich, dass u.U. für einzelne Sorten mit abweichendem Nachernteverhalten gesonderte Datensätze für die Berechnung der Resthaltbarkeit bereitgestellt werden müssen.

Tomaten sind in bestimmten (frühen) Entwicklungsstadien stark kälteempfindlich. Kälteschäden machen sich durch mangelnde Ausfärbung, Aroma- und Geschmacksverluste, Glasigkeit, Weichwerden in frühen Entwicklungsstadien und stärkere Anfälligkeit für mikrobiellen Befall (Fleckigkeit) bemerkbar. Wegen der Sortenvielfalt können keine allgemein gültigen Werte für das Auftreten von Schädigungen infolge von Temperaturunterschreitungen (nach Dauer und Intensität) angegeben werden. Im Zweifelsfall sollten entsprechende Tests durchgeführt werden.



Abb. 9: Grenzwerte für die thermische Belastung von Tomaten in Abhängigkeit von der mittleren Temperatur

Andere Obst- und Gemüsearten

Für weitere Obst- und Gemüsearten sind Verderbskinetiken externer Autoren z.T. aus viele Jahre zurückliegenden Arbeiten in der Literatur verfügbar (Thorne & Meffert 1979; Labuza &

Breene 1989). Hier ist jedoch in jedem Fall zu überprüfen, ob und in welchem Umfang die angegebenen Beziehungen für die Bestimmung der Resthaltbarkeit genutzt werden können. Insbesondere die heute vorhandene Sortenvielfalt, aber auch neue Methoden der Kulturführung erfordern zusätzliche Untersuchungen.

II.1.1.3. Haltbarkeitsvorhersagemodell

Für das modulare Datenloggersystem wird ein einfaches Haltbarkeitsvorhersagemodell für Obst und Gemüse, basierend auf der thermischen Belastung der Produkte, eingesetzt. Grundlage dieses Modells sind die beispielhaft weiter oben beschriebenen, im Rahmen von Laborsimulationen ermittelten Zusammenhänge (Abschnitte 1.1.1.1.- 1.1.1.2.). Aus den durch die Datenlogger gemessenen Temperatur-Zeit-Relationen wird auf Anforderung die mittlere Temperatur über den gesamten zurückliegenden Zeitraum (beginnend ab Ernte) berechnet. Ausgehend von dieser Temperatur wird die Haltbarkeit (bis zum Erreichen der Vermarktungsgrenze) ermittelt. Die aktuelle Resthaltbarkeit kann dann auf Basis der für die verbleibende Nacherntezeit zu erwartende Temperatur (Eingabewert über die Kommunikationsschnittstelle) vorhergesagt werden.

II.1.1.1.4. Umgebungsbedingungen

Für den Einsatz von einzelnen Komponenten des mobilen Datenloggersystems ist es von Bedeutung, die später zu überwachende Spannweite der Umgebungstemperatur zu kennen. Daraus muss die Entscheidung abgeleitet werden, wie viele Temperaturmesswerte (Datenlogger) erforderlich sind, um eine konkrete Warenpartie (z.B. 30 Europaletten a 50 Kartons a 5 kg) zuverlässig auf dem gesamten Weg vom Erzeuger bis zum Verbraucher zu kontrollieren. Diese Entscheidung muss zudem unter Beachtung der zu erwartenden Warenströme getroffen werden. Beispielsweise wird eine anfängliche Partie von 30 Paletten zunächst palettenweise vereinzelt, später werden auch noch Kartons einer einzelnen Palette vereinzelt, so dass z.B. im Supermarkt A 10 Kartons der originären Partie und im Lebensmitteleinzelhandel (LEH) B nur 4 Kartons ankommen.

Ausgehend von Erfahrungen aus früheren, eigenen Untersuchungen ist bekannt, dass die größten zu erwartenden Temperaturdifferenzen in der Nacherntekette bezogen auf eine einheitliche Warenpartie beim gekühlten Lkw-Transport auftreten.

Für die Ermittlung des Istzustandes von zu erwartenden Temperaturunterschieden wurden daher im Projektzeitraum insgesamt 3 größere Versuchsserien unter Praxisbedingungen mit unterschiedlichen Produkten durchgeführt (Äpfel aus dem Raum Halle/Saale nach Berlin, dto. Süßkirschen, Weintrauben aus dem Raum Antalya (Türkei) nach Wien (Österreich).



Abb. 10: Temperaturverlauf und -differenzen beim Transport von 33 Paletten mit Weintrauben auf einem Kühl-Lkw

In der Abbildung 10 sind beispielhaft die Ergebnisse des Versuches mit Weintrauben dargestellt. Die Früchte wurden in der Türkei bei einer mittleren Lufttemperatur von 27°C ohne Vorkühlung verladen . Der LkW wurde mit 33 Paletten a 60 Kartons (11 Reihen zu je 3 Paletten) beladen. Während des Beladevorganges wurden 30 kommerziell verfügbare Miniaturdatalogger (IrDan, Fa. Esys, Berlin) beginnend ab Reihe 2 (linke, mittlere, rechte Palette) direkt im Produktbereich angeordnet.

Die in der jeweiligen linken Palette angeordneten Logger befanden sich im unteren Bereich, die mittig angeordneten Logger im mittleren Bereich und die rechts angeordneten Logger im oberen Bereich des Kistenstapels. Die mittlere effektive Temperatur über alle Datalogger von Schließen bis zum Öffnen der Lkw-Türen nach 70 Stunden wurde mit 9,1°C gemessen (bei einer Sollwerteinstellung am Kälteaggregat von 2°C).



Abb.11: Mittlere Temperaturverteilung auf einem LKW während eines gekühlten Transportes von Weintrauben über einen Zeitraum von 3 Tagen (11 Reihen (R1, ..., R11) je 3 Paletten)

Die örtliche Temperaturverteilung (mittlere effektive Temperatur über die Transportdauer) ist in der Abbildung 11 enthalten. Während des ca. 3-tägigen Transportes wurden im Mittel 9,0 K Temperaturdifferenz (min 5,3°C; max 14,3°C) zwischen den Paletten gemessen.

Während des Transportes ergaben sich somit ca. 650 Kh (Gradstunden) Unterschied in der thermischen Belastung der Tafeltrauben an unterschiedlichen Positionen. Diese Belastung kann sich je nach Produktart unterschiedlich stark auf die Resthaltbarkeit auswirken. Bei Weintrauben kann davon ausgegangen werden, dass die Paletten mit den hohen Transport-temperaturen eine um ca. 1 Tag verringerte Haltbarkeit aufweisen. Bei vielen anderen Produktarten sind z.T. weitaus höhere Haltbarkeitsverluste zu erwarten.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen führen generell zu der Aussage, dass pro Palette ein Datalogger zur Kontrolle der thermischen Belastung eingesetzt werden sollte. Dies ist auch aus organisatorischen bzw. abrechnungstechnischen Gründen (siehe hierzu auch unter 1.3.) sinnvoll.

II.1.1.5. Datenübertragungsproblematik

Im Bereich von Gutarten mit hohen Wassergehalten (wie z.B. frisches Obst und Gemüse) ist die Qualität der Datenübertragung generell als problematisch einzuschätzen. Durch Wasser erfolgt eine starke Dämpfung der Signalstärken. Aus diesem Grund wurden durch den Projektpartner mehrere Versuchsreihen mit Obst und Gemüse (unter realen Bedingungen im Lagerbereich und beim Transport) mit verschiedenen dem aktuellen Stand der Technik entsprechenden Datenübertragungsprinzipien (ZigBee, Bluetooth, ...) durchgeführt. Die Ergebnisse (siehe auch Abschlussbericht der ESYS GmbH) führten zu der Festlegung, beispielsweise auf Online-Aktualisierung während der LkW-Transporte zu verzichten. Dies hat auch zur Folge, dass Schreib- und Lesevorgänge auf/von den Dataloggern nur unter stationären Bedingungen (z.B. bei Kommissionierungen, bei Be- und Entladevorgängen usw.) erfolgen können.

II.1.1.2. Sensorspezifikation (BAM)

Die Auswahl, Einsatzvorbereitung und Testung der für die Datenlogger verwendbaren Sensoren (Temperatur, Luftfeuchte) wurde durch die Bundesanstalt für Materialprüfung (zertifiziertes Prüflabor) begleitet. Als Sensorelement wurde ein digitaler Kombifühler (Feuchte- und Temperatursensor) SHT-75 (Fa. Sensirion, Schweiz) ausgewählt. Neben ökonomischen Gesichtspunkten wurden Messbereiche, Messgenauigkeiten, Energieverbrauch, Ansprechzeiten, Abmessungen, Austauschbarkeit und weitere als Auswahlkriterien herangezogen. Im vorgesehenen Einsatzbereich werden herstellerseitig Messgenauigkeiten von ± 0.5 K (Temperatur) und $\pm 2.0\%$ (relative Luftfeuchte zwischen 10 und 90%) angegeben. Diese Grenzwerte konnten in dem realisierten Datenloggern nicht in vollem Umfang bestätigt werden.

Oberhalb von 90% rH ist es nicht möglich, mit dieser Art (preiswertem) Feuchtesensor verlässliche Werte zu messen. Damit bestätigt sich die eingangs gewählte Strategie, die Luftfeuchtemessung nicht unmittelbar in die Haltbarkeitsvorhersage einzubeziehen. Sie kann bei Obst und Gemüse lediglich als Zusatzinformation zu den Umgebungsbedingungen (in ausreichender Entfernung von der Produktoberfläche) verwendet werden. Da zudem die Strömungsbedingungen in Produktnähe nicht mit vertretbaren Aufwendungen erfasst werden können, ist die eingangs getroffene Festlegung, nur Produkte mit ausreichendem Transpirationsschutz zu überwachen uneingeschränkt gültig.

II.1.1.3. Sonstige Erkenntnisse aus Voruntersuchungen

Temperaturunterschiede zwischen dem Messort des Datenloggers (außen an der Verpackung) und dem direkten Produktbereich können generell nicht ausgeschlossen werden, beispielsweise in der Abkühlungsphase. Der Einfluss dieser Differenz auf die Haltbarkeitsberechnung wird von Produktart zu Produktart variieren. Bei den besonders empfindlichen (atmungsintensiven) Produktarten sollten diese Temperaturunterschiede nach Möglichkeit minimiert werden. Eine (Hardware-)Lösung dieses Problems ist ein vom Logger abgesetzter Sensor (z.B. mit 30-40 cm Kabellänge), der im Produktbereich angeordnet werden kann. Eine (Software-)Lösung dieser Fragestellung könnte über Modellrechnungen zum instationären Wärme- und Stoffübergang gefunden werden.

Im Rahmen dieses Projektes wurden dazu erste Ansätze zum Wärme- und Stoffübergang am Einzelprodukt bei freier Konvektion und innerer Wärmeentwicklung (Atmung) unter Verwendung einer Multiphysics-Modelling Software (COMSOL 3.3, Fa COMSOL, Schweden) untersucht. Die dazu erforderlichen Stoffkennwerte (lokale Wärmeleitfähigkeit, effektiver Diffusionskoeffizient in Abhängigkeit von Temperatur und Wassergehalt) sind für jede Produktart für den Bereich der Nachernteklimabedingungen in Vorversuchen zu bestimmen. Für Einzelprodukte bei freier Konvektion konnte am Beispiel von Möhren gezeigt werden, dass Modellrechnungen und gravimetrische Messmethodik zu übereinstimmenden Ergebnissen (Wasserverlust, Oberflächentemperatur) führen. Wegen der Komplexität des Problems konnte die ursprüngliche Zielstellung auf diesem Wege gesicherte Erkenntnisse zum instationären Wärme- und Stoffübergang von Verpackungseinheiten zu erarbeiten, nicht erreicht werden. Der diesbezüglich erreichte Ergebnisstand bildet jedoch eine solide Grundlage um in nachfolgenden Arbeiten, Aussagen zum instationären Verhalten von mehreren Produkten in einer Verpackung zu erarbeiten. Diese Untersuchungen sind auch für die Qualifizierung der Werte für die thermische Belastung, insbesondere bei markanten Temperaturwechseln (z.B. Wiedererwärmen nach der Kühlung) von Bedeutung.

Im Rahmen von Voruntersuchungen wurden zudem Untersuchungen von lufttechnischen Eigenschaften verschiedener Verpackungssysteme (Kunststoff-Container, Pappkartons) durchgeführt. Dazu waren zunächst die methodischen Grundlagen zu erarbeiten.



Abb. 12: Um- bzw. Durchströmung der Messanordnung mit Verdunstungskugeln und Dummies bei wechselnden Strömungsrichtungen

Zur Ermittlung des Verhaltens von Umverpackungen bei verschiedenen Strömungsverhältnissen wurden Verdunstungsmesskugeln eingesetzt (Linke *et al.* 2008). Pro Ebene wurden 10 Verdunstungsmesskugeln nach einem fixen Schema gemeinsam mit Flüssigkeit gefüllten Kunststoffkugeln (Dummies, die kein Wasser abgeben) gleicher Abmessungen angeordnet (Abb. 12). Aus dem Gewichtsverlust der Verdunstungsmesskugeln und den gemessenen äußeren Klimabedingungen (Lufttemperatur, Luftfeuchte, Anströmgeschwindigkeit) wurde der mittlere Widerstand der überlagerten Grenzschichten als Maß für die Luftdurchlässigkeit der Verpackung bestimmt.

Die Ergebnisse der Untersuchungen sollen künftig zur Qualifizierung des Haltbarkeitsvorhersagemodells genutzt werden. Das Verfahren ist geeignet die lufttechnischen Eigenschaften von offenen Umverpackungen ausreichend genau zu bestimmen.

II1.2. Intelligentes modulares Kontroll- und Steuerungssystem

Zur Umsetzung der Zielstellung wurde ein modulares Datenloggersystem konzipiert und bis zur Markteinführung entwickelt. Hierbei wird ein Miniaturdatalogger an einer Verpackungseinheit angebracht und zeichnet die thermische Belastung entlang des Weges vom Erzeuger bis zum Verbraucher auf. Die Datenlogger können gleichzeitig als Medium für den Transport weiterer Informationen verwendet werden, da hier auch Informationen für die Rückverfolgbarkeit transportiert werden können. Durch die Verknüpfung der Produkt- und Prozessinformationen mit mathematischen Modellen, die den Abbau von Inhaltsstoffen beschreiben, besteht die Möglichkeit, temperaturabhängige interne Stoffwechselprozesse unter praktischen Bedingungen zeitnah zu kontrollieren. Die Konzeption berücksichtigt weitgehend den oben beschriebenen Istzustand in Nachernteketten von Obst und Gemüse. Technische Details der Lösung können dem Sachbericht des Projektpartners ESYS entnommen werden.

II.1.2.1. Übersicht

Abbildung 13 zeigt einen Gesamtüberblick über das entwickelte modular aufgebaute System, sowie dessen Einordnung in die Nacherntekette von Obst und Gemüse.

Ein wesentlicher Vorteil der vorliegenden Lösung besteht darin, dass einzelne Komponenten (Datenlogger, untere Ebene) oder das Gesamtsystem mit geringen Aufwendungen an bestehende Informations-/ Kontroll- und Abrechnungssysteme angepasst werden können.

II.1.2.2. Hardwaremodule

II.1.2.2.1. Untere Ebene

Ein wichtiges Merkmal der vorliegenden Lösung ist darin zu sehen, dass die Datenlogger der unteren Ebene im Bedarfsfall mit geringen Einschränkungen der Funktionalität autark (ohne die Serverlösung) arbeiten können.



Abb. 13: Gesamtübersicht zum modularen Datenloggersystem mit Basisloggern, Kommunikationsschnittstelle und Internetserver

In wählbaren Zeitintervallen erfassen die Logger die Temperatur und ggf. die Luftfeuchte (informativ, siehe weiter oben). Sie können zudem als Medium für den Transport weiterer Informationen verwendet werden, da sie auch relevante Textinformationen für die Rückver-

folgbarkeit aufnehmen. Den wechselnden Verantwortlichkeiten für das geerntete Produkt und den vielfältigen Strukturen von vorhandenen Nachernteketten Rechnung tragend, verfügen die Datenlogger über zwei weitere Funktionen, die auf herkömmlichen, kommerziell verfügbaren Geräten nicht vorhanden sind: eine Lieferscheinfunktion und eine Datenübergabefunktion (von Logger zu Logger). Diese zusätzlichen Funktionen wurden implementiert, um den durchgängigen Informationsfluss auf dem Weg vom Erzeuger bis zum Verbraucher zu gewährleisten. Weitere technische Details, wie Messbereiche und Messgenauigkeitsangaben, Spannungsversorgung, Speicherorganisation, etc. können dem Datenblatt des Kooperationspartners entnommen werden (Abb. 14).

Als Kommunikationsschnittstelle sowohl für die untere Ebene als auch für das Gesamtsystem können ein Smartphone (Blackberry, Fa. Research in Motion, Canada) und/oder ein PC/Notebook (mit Bluetooth) eingesetzt werden.

MESSLOGGER-FAMILIE BlueDAN · Technische Daten · Benutzerhinweise 11.12.2009 **BlueDAN**clima Zweikanal-Temperatur-/Feuchtelogger Datenlogger zur Erfassung und Speicherung von Temperatur und Feuchte. Die Kommunikation erfolgt funkgekoppelt via Bluetooth™. · Messgröße/-sensor °C und r. F kombiniert / Halbleitersensor • Messbereich Temperatur -10 ... +60°C / Feuchte 2 % ... 99 % r. F. • Auflösung 0,1°C/0,1% r. F. • Genauigkeit ±1°C bei 0 ... +60°C / ±4 % r. F. bei 2 ... 99 % Zeitbasisgenauigkeit <40 ppm (0°C ... +60°C) <150 ppm (0°C ... +85°C) • Messperiode programmierbar 1s ... 24 h, sekundenweise • Speicherperiode programmierbar 1s ... 24 h, sekundenweise Min-/Maximalwertermittlung automatisch • Speicher Ringspeicher (FRAM) • Speicherkapazität Messwerte max. 4681 Datensätze (64KByte) Speicherkapazität Text 128 Zeilen a 125 Zeichen • Datenerhalt >10 Jahre ohne Batterie • Spannungsversorgung interner Lithium-Akku : 3,7 V, 1000 mAh • Betriebsdauer mit einer Akkuladung (Bluetooth[™] inaktiv) bis zu 1 Jahr (Bluetooth[™] Standby) bis zu 1 Monat • Akku - Ladung USB (max. 500mA) Betriebstemperaturbereich 0°C ... +85°C • Ausgabe Online-Anzeige bzw. Messwertdarstellung am PC Schnittstelle Bluetooth[™] Class1 20 ... 50 m (im Gebäude) 100 m (im Freien) Gehäuse Kunststoff-Gehäuse IP 55 • Abmessungen 92 x 62 x 11 mm3 • Gewicht ca. 68 g mit internem Lithium-Akku Steuerungs- und Auslesesoftware unter MS-WINDOWs 2000/XP/VISTA • Format der Datendatei XML (*.xml) • Format der Export-Datei ASCII (*.cvs) **Option Lieferschein** Spezieller Speicherbereich für bis zu 64 Lieferscheininformationen Software für Blackberry Mobiltelefon auf Anfrage Optionen auf Kundenwunsch Anwenderspezifische Gehäusekonfigurationen • OEM-Variante als Leiterplatte lieferbar

Abb. 14: Datenblatt des Projektpartners mit den wichtigsten Informationen zum Datenlogger

II.1.2.2.2. Internetbasiertes Gesamtsystem

Die Verwaltung aller Produktdaten als auch die Berechnung der Haltbarkeit erfolgt auf einem Internetserver. Alle Anfragen, Messwerte und sonstige Daten gelangen per Onlineverbindung zum Server und zurück zur Kommunikationsschnittstelle.

II.1.2.3. Softwarelösungen

Die auf dem Webserver implementierte Software wurde unter der Programmierumgebung Microsoft Visual Webdeveloper 2008 (Net 3.0) in der Programmiersprache C# erstellt. Die Produktdaten des Herstellers werden einem Lieferschein zugeordnet und in einer Datenbank (SQL-Server) verwaltet. Informationen zur Transportlogistik (Ort, Zeit) werden ebenfalls in diese Datenbank eingetragen. Messwerte werden als Mittelwerte zwischen 2 Einträgen bzw. Abfragen gespeichert. Diese Angaben bilden die Grundlage für die Berechnung der Resthaltbarkeit.

Die Software auf dem Smartphone läuft unter dem Blackberry Betriebssystem. Durch den Projektpartner wurde ein Softwarepaket entwickelt, dass Eingaben, Abfragen und Datenübertragung zu den Loggern und zum Server beinhaltet (Abb. 15).



Lieferschein Lieferschein Ladevorgang

Loggerabfrage

Abb. 15: Oberfläche (Eingabemasken) der Kommunikationsschnittstelle für Lieferschein und Loggerabfrage (ESYS-GmbH)

II.1.3. Funktionstest des Gesamtsystems

II.1.3.1. Randbedingungen

Die Erprobung des modularen Datenloggersystems erfolgte im Rahmen einer komplexen Nachernte- und Transportsimulation (Ablaufschema siehe Abb.16) mit 8 Datenloggern und 20 Kartons Salatgurken. Dabei stand die Erprobung der einzelnen Funktionen des Systems (Datentransfer Logger-Server, Funktionalität und Bedienbarkeit der Kommunikationsschnittstellen, Lieferscheinfunktion, Datenübergabefunktion von Logger zu Logger) unter quasirealen Bedingungen im Mittelpunkt der Untersuchungen.



Diese Aussage bezieht sich sowohl auf die technologisch/organisatorischen als auch auf die Umgebungsbedingungen (Zeit/Temperatur Relationen) in einer beispielhaften Nacherntekette.

Zwei Erzeuger liefern ein Produkt an ihre Erzeugerorganisation. Jeder Erzeuger verfügt über mindestens 1 Datenlogger, 1 Smartphone bzw. Notebook, mit denen die für die Rückverfolgbarkeit relevanten Informationen über eine Maske (Smartphone/Notebook) eingegeben werden. Hier besteht auch die Möglichkeit, eine thermische Vorbelastung (Zeit + Temperatur) anzugeben, für den Fall das Erntezeit und Loggerstart (aus organisatorischen Gründen) nicht übereinstimmen. Nach Abschluss der Dateneingabe wird auf dem Webserver ein neuer Datensatz für den Vorgang angelegt.

Anschließend wird (vor Ort) die Aufzeichnung der Umgebungstemperaturen gestartet und der Datenlogger in Produktnähe angebracht. Im Normalfall reicht ein Datenlogger für eine

Produktcharge (z.B. mehrere Paletten). Nach in der Regel kurzen Transporten erfolgt in der Erzeugerorganisation die Zusammenstellung der Produkte zu größeren Einheiten, verbunden mit einem Wechsel der Zuständigkeit für das Produkt. Ab hier ist eine durchgehende Überwachung nur dann möglich, wenn ein Datenlogger pro Palette vorgesehen wird (siehe auch unter II/1.1.1.4).

Auf der Basis der aufgelaufenen Temperaturmesswerte wird die erste Haltbarkeitsabfrage durchgeführt. Mit dem Wechsel der Verantwortung für das Produkt sollte konsequenterweise hier auch eine Datenübergabe von Logger zu Logger vorgenommen werden. Sowohl Textinformationen als auch aggregierte Messwerte werden auf die nun zuständigen Logger übertragen (im Beispiel Logger 3 und 4), die auch die Temperaturkontrolle übernehmen.

Im Großhandel erfolgt die Kommissionierung der Ware in der Regel pro Palette. Hier besteht erstmals die Möglichkeit, die zeitnahen Informationen zum (inneren) Produktzustand bei der Disposition der Produktcharge zu berücksichtigen. Die Datenlogger verbleiben an der jeweiligen Palette. Im Rahmen der komplexen Funktionsprüfung wurde an dieser Stelle eine Transporteinheit (Transport der Salatgurken von Potsdam-Bornim nach Berlin (ESYS)) zur Simulation des realen Transportes vom Großhandel zum Einzelhandelslager eingeordnet. Hier erfolgt eine weitere Abfrage der Resthaltbarkeit.

Im Normalfall werden an dieser Stelle die Produktpaletten in kleinere Einheiten (einige Kartons) aufgelöst, sodass hier wiederum Datenübergaben von Logger zu Logger (Logger 3 an Logger 5 und 6, Logger 4 an Logger 7 und 8) notwendig werden, um die lückenlose Kontrolle der Produktqualität zu gewährleisten. Die Logger 5-8 könnten gleichzeitig genutzt werden, um die ab hier praxisüblichen Mischtransporte zu überwachen. Prinzipiell reicht ein Logger pro Transport, um den letzten Weg des Produktes zum jeweiligen Point-of-Sale zu verfolgen

Der Projektpartner verfügt zusätzlich zu den hier beschriebenen Funktionen über eine Lösung zur zeitnahen Überwachung der Transportwege per GPS-Tracker (siehe auch ESYS Sachbericht).

II.1.3.2. Ergebnisse der Funktionsprüfungen

Das Ziel der Funktionsprüfung bestand darin, die einzelnen Funktionen der technischen Lösung (Konfiguration, Dateneingabe, Datenerfassung, Datenübertragung, Datenverarbeitung) sowie das Zusammenwirken der Komponenten des Systems (Datenlogger, Server, Kommunikationsschnittstelle) zu überprüfen.

Sowohl die Basisfunktionen (Konfiguration, Datalogging, Übertragen von Textinformationen) als auch die zusätzlichen Funktionen (Lieferschein, Datenübertragung von Logger zu Logger, Abfrage der Resthaltbarkeit) konnten an den dafür vorgesehenen Stationen (Abb. 16) erfolgreich getestet werden. Es wurden auch einige Probleme lokalisiert (z.B. Geschwindigkeit der Datenübertragung), deren Lösung der Projektpartner im Rahmen seiner vorgesehenen Arbeiten zur Herstellung der Serienreife herbeiführen wird (siehe Sachbericht ESYS).

Literatur

Cantwell, M. (2005): Postharvest handling Challenges for Specialty Crops. Internetquelle: aic.ucdavis.edu/events/CAS_05/cantwell_part_A.pdf.

- FAO (2003): Handling and preservation of fruits and vegetables by combined methods for rural areas. FAO Agricultural service Bulletin 149, Rome, Italy
- Geyer, M.; Müller, K. (2005): Möglichkeiten zur Qualitätssicherung ökologisch erzeugter Gartenbauprodukte durch Koordinierung der Wertschöpfungsketten. Bornimer Agrartechnische Berichte Heft 48 (Teil II), Potsdam-Bornim, S. 57-103.
- Kader, A.A. (2003): A Perspective on Postharvest Horticulture (1978–2003). HortScience 38 (5): 1004-1008.
- Labuza, T.P.; Breene W.M. (1989): Applications of active packaging for improvement of shelf-life and nutritional quality of fresh and exented shelf-life foods. Journal of Food Processing and Preservation 13(1): 1-69.
- Linke, M., Herppich, W.B., Geyer, M. (2003): An integrated approach to indicate freshness of horticultural produce. In: Quality in Chains - Wageningen, Netherlands, Acta Horticulturae, 604:539-543.
- Linke, M.; Butenuth, K. (2006): Kontrolle der Frische in der Nacherntekette von Ökogemüse (Control of freshness in the postharvest chain of organic grown vegetables) Bornimer Agrartechnische Berichte (ISSN 0947-7314), Heft 57, Potsdam-Bornim, S. 1-90.
- Linke, M.; Butenuth, K.; Schlüter, O. (2007): Qualitätssicherung von Obst und Gemüse mit Etikettensensoren. Fachzeitschrift für die gesamte Frische- und Lebensmittel-Logistik und benachbarte Gebiete (ZGFLL) 1 (4). Online unter URL: http://www.wwp-verlag.de/, 11 S.
- Linke, M.; Schlüter, O., Geyer, M. (2008): A simple atmospheric evaporation device as a useful tool for validation of air flow models and for process applications. In: (P. Barreiro et al., eds.) Proceedings of the 4th International Symposium on Applications of Modelling as an Innovative Technology in the Agri-Food-Chain. Acta Horticulturae 802: 105-109.
- Schouten, R.E., Tijskens, L.M.M.; Van Kooten O. (2002): Predicting keeping quality of batches of cucumber fruit based on a physiological mechanism. Postharvest Biology and Technology 26: 209-220.
- Thorne, S.; Meffert, H.F.TH. (1979): The Storage Life of Fruits and Vegetables. Journal of Food Quality 2:105-112.
- Tijskens , L.M.M., Hertog, M.L.; Nicolai, B.M. (eds) (2001): Food process Modelling. Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, UK.
- Van Uffelen R.L.M.; Splinter, G.M.; van Kooten, O.; Botden, N.(2004): Waste Reduction in Supply Chains of Arable Vegetables. In: Bokelmann, W.(Ed.):Proceedings of the XVth International Symposium on Horticultural Economics and Management, Berlin, 30.8.- 03.09.2004, Acta Horticulturae, No.655, S.283-289.

II.4. Voraussichtlicher Nutzens, insbesondere Verwertbarkeit des Ergebnisses im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

Durch den Einsatz des modularen Datenloggersystems besteht für die in der Nacherntekette von gartenbaulichen Produkten handelnden Akteure die Möglichkeit, aktiv Einfluss auf die Qualitätserhaltung von Obst und Gemüse zu nehmen. Dementsprechend wird sich eine Verringerung von Totalverlusten ergeben, deren Größenordnung schwer einzuschätzen ist.

In Bezug auf die Verwertbarkeit der Ergebnisse soll hier auch aus dem Sachbericht des Projektpartners zitiert werden:

Der Markt für die Miniaturlogger bezieht sich auf die Qualitätsüberwachung sensibler Produkte und Güter, für die sich die Notwendigkeit der Eigenschaftsüberwachung auf dem Weg von der Herstellung bis zum Endkunden ergibt. Nimmt man allein aus der im Projekt priorisierten Frische- und Kühllogistik die Lebensmittelüberwachung insbesondere während des Transports, so kann allein für dieses Segment in Deutschland ein zukünftiger Gesamtbedarf von über 200.000 Stück pro Jahr unter Berücksichtigung der Wiederverwendbarkeit abgeschätzt werden, wenn man davon ausgeht, dass wenigstens pro Palette oder Produktgruppe ein Datalogger zur Nachweisführung vorgesehen werden muss. Unter Annahme von dann ebenfalls am Markt verfügbaren Wettbewerbsprodukten soll als realistische Größe von einer möglichen Umsatzgröße von ca. 20.000 Stück Dataloggern pro Jahr ausgegangen werden. Hinzu kämen andere sensible Transportbereiche wie für medizinische (z.B. Blutkonserven) und chemische Substanzen, die hier nicht einberechnet wurden.

Insofern kann von guten Chancen bei der wirtschaftlichen Umsetzung ausgegangen werden, wobei die Preiskalkulation einen wesentlich beeinflussenden Faktor darstellt.

Bezüglich der wissenschaftlich/technischen Erfolgsaussichten nach Projektende kann die Schlussfolgerung abgeleitet werden, dass die gewonnen Erkenntnisse über die Möglichkeiten der verschiedenen Arten funkgekoppelter und energiearmer Auslegung nicht nur für Datalogger von Bedeutung sind, sondern auf andere elektronische Systeme transferiert werden können und somit das Haupttätigkeitsfeld der ESYS GmbH, energieminimierte mobile Systeme, insgesamt stark beeinflussen werden. [Zitat Ende]

II. 5. Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet bei anderen Stellen

Der technisch-technologische Fortschritt auf dem Gebiet der Handy/Smartphone-Entwicklung führte dazu, die ursprünglich vorgesehene Datensammeleinheit zu ersetzen.

Die Fa. Stepac (Teflen, Israel) verfügt mit XSense[™] über ein mit der erarbeiteten Lösung vergleichbares System zur Produktkontrolle im Nacherntebereich. Die Konzeption des Gesamtsystems mit Internetanbindung bietet vergleichbare Möglichkeiten, ist jedoch mehr auf Logistikunternehmen ausgerichtet. Das System besteht aus Datenloggern, Sammeleinheit und Internetserver. Die Messung der Luftfeuchte direkt im Produktbereich von Obst und Gemüse muss allerdings angezweifelt werden. Zumal die Luftfeuchte nur im Zusammenwirken mit der Luftströmung zur Bestimmung von Wasserverlusten herangezogen werden kann, erscheint der Informationsgehalt dieser Messung fraglich. Informationen über die Rückverfolgbarkeit werden offensichtlich nicht unmittelbar mit dem System transportiert. Aus den vorliegenden Informationen wird nicht deutlich, ob den Organisationsprinzipien von inhomogen aufgebauten Nachernteketten Rechnung getragen wird, d.h. insbesondere ob das System auch bei wechselnden Verantwortlichkeiten eingesetzt werden kann. Das System arbeitet palettenorientiert. Dadurch endet die Kontrolle im Lebensmitteleinzelhandelslager.

II.6. Erfolgte und geplante Veröffentlichungen

Nachfolgend sind die bisher erfolgten relevanten Veröffentlichungen (Publikationen und Vorträge) aufgeführt.

- Linke, M.; Hübert, Th.; Lang, C.; Quaas, H.; Baltaci, D.; Geyer, M. (2008): Modular system for quality monitoring in the logistic chain Shelf life prediction model and sensor technology state of the art. ProSenso.net2 Workshop, Postharvest Unlimited 4.-7. Nov 2008, Berlin. In: ATB Bornimer Agrartechnische Berichte, Heft 64, 2008, S. 15.
- Lang, C.; Hübert, T.; Quaas, H.; Linke, M. (2010): On-line Measurement of Humidity in the Agri-Food Chain. IN: Proceedings of the 3rd International Conference Postharvest Unlimited 2008, (W.B. Herppich, ed.). Acta Horticulturae 858: 413-417.

- Baltaci, D.; Linke, M.; Geyer, M. (2009): Transpiration loss of fresh produce in transport packages A base for a shelf life prediction model. 6th International Postharvest Symposium, 8-12 April 2009, Antalya Turkey (Proceedings in press).
- Geyer, M.; Linke, M.; Gerbert, I.; Schlüter, O.; Kläring, H.-P. (2008): Beurteilen der Haltbarkeit klimakterischer Früchte am Beispiel der Tomate. Landtechnik 63 (3): 158-159.
- Geyer, M.; Gerbert, I.; Linke, M.; Herppich, W.B.; Kläring, H.-P. (2008): Modelling the shelf life of fruit depending on pre-harvest and post-harvest conditions. Cold-Chain-Management. 3rd International Workshop Cold-Chain-Management. University Bonn, June 2-3, Bonn, Germany.
- Gerbert, I.; Linke, M.; Geyer, M.; Zude, M. (2008): Monitoring and modelling the postharvest behaviour of horticultural produce. 45. Gartenbauwissenschaftliche Tagung Wien.
- Schlüter, O.; Herold, B.; Herppich, W.; Linke, M.; Geyer, M. (2007): Optimierte Verfahrensführung durch den Einsatz neuer Sensortechnologien bei der Produktion frischer pflanzlicher Lebensmittel. ProcessNet VDI-GVC Fachausschuss-Sitzung "Lebensmittelverfahrenstechnik", 15.-16.03.2007, Zürich, Schweiz.
- Linke, M.; Hübert, Th.; Lang, C.; Quaas, H.; Baltaci, D.; Geyer, M. (2008): Modular system for quality monitoring in the logistic chain Shelf life prediction model and sensor technology. ProSenso.net2 Workshop, Postharvest Unlimited 4.-7. Nov 2008, Berlin.

Anlage 1 (zu Nr. 8.1 NKBF 98)

ZE: ESYS GmbH	Förderkennzeichen:			
Schwedter Str. 34a	0339992i			
D-10435 Berlin				
Vorhabensbezeichnung:				
Erschließung von Nachhaltigkeitspotenzialen durch Nutzung innovativer Sensortechnologien und ganzheitlicher Bewertungsmodellen in der Produktionskette von pflanzlichen Lebensmitteln TV7: Monitoringsystem für Logistikketten von pflanzlichen Lebensmitteln - Entwicklung der System- und Schaltungstechnik -				
Laufzeit des Vorhabens: 1. 7. 2006 bis 31. 12. 2009				
Berichtszeitraum: 1. 7. 2006 b	is 31. 12. 2009			

Schlussbericht zu Nr. 8.1

1. Zielstellung und Ablauf

Das Ziel des Teilvorhabens ist die Entwicklung eines Monitoringsystems für Logistikketten von pflanzlichen Lebensmitteln in Kooperation zwischen dem ATB und der ESYS GmbH. Hardwareseitig soll dieses System in der Lage sein, Messwerte an unterschiedlichen Stellen an einem Stapel oder über verschiedene Paletten verteilt oder auch direkt am Produkt mit Hilfe mehrerer Datalogger autonom arbeitsfähig zu erfassen, diese in einer Basisstation zu sammeln (Datensammler) und von dort via Internet an einen Webserver zur Auswertung und Aufbereitung zu übertragen. Parallel dazu soll eine intelligente Datenbank für ausgewählte Produkte entwickelt werden, wobei sowohl die physikalischen Grundlagen bei der Datenerfassung zu berücksichtigen sind als auch die produktspezifischen Daten modellhaft aufbereitet werden müssen. Hierzu sind im Hintergrund ablaufende modellbasierte Algorithmen zu entwickeln. Das datenbankgestützte System soll beispielhaft für Obst und Gemüse entwickelt und getestet werden, weil dort aufgrund der großen Qualitätsverluste bei hohen Temperaturen und niedriger rel. Feuchte großer Handlungsbedarf besteht. Für ein derartiges System wurde seitens des ATB neben den Untersuchungen an den Produkten -insbesondere in Zusammenarbeit mit der BAM- die Algorithmen- und Datenbankentwicklung, seitens der ESYS GmbH die Entwicklung der System- und Schaltungstechnik inkl. der Firmware sowie ausgewählter Teile der Software Die Schwerpunkte der ESYS-Arbeiten beziehen sich dabei auf übernommen.

- die Entwicklung von Funkloggern für die Messung von Lufttemperatur und Luftfeuchte mit Speichermöglichkeit für Messwerte und anwenderspezifische Daten, um sowohl den autarken singulären Einsatz als auch den netzbasierten Einsatz zu ermöglichen
- Die Entwicklung und Anpassung einer Basisstation, welche die Daten der Logger erfasst, ggf. vorverarbeitet, via GPS mit geografischen Positionen verknüpft und via Mobilfunk (GSM/GPRS) Kontakt zum Web Server gewährleistet





Struktur der Hardware des modularen netzwerkbasierenden Überwachungssystems

Die Arbeiten wurden unter Federführung des ATB partnerschaftlich zwischen ATB, BAM und ESYS durchgeführt. Neben regelmäßigen Treffen der Projektverantwortlichen fanden auch ereignisorientierte Beratungen und ständige konkrete Abstimmungen der Entwickler statt.

Ausgangspunkt für die Arbeiten war zum einen die nationale und internationale Situation, dass wegen der hohen Relevanz der Themenstellung an verschiedenen Lösungen gearbeitet wird und zum anderen das eigene Know How der Partner, das auf jahrelangen Erfahrungen in den jeweiligen betreffenden Gebieten basiert. Somit waren wichtige Voraussetzungen für eine effektive Bearbeitung gegeben.

2. Wissenschaftlich-technische Ergebnisse

Die Projektbearbeitung wurde seitens der ESYS GmbH mit Recherchen, Untersuchungen, praktische Messungen sowie Konzeptentwicklungen zur Systemund Schaltungstechnik für das zu entwickelnde modulare System zur durchgängigen Produktqualitätsüberwachung begonnen. Insbesondere wurden wesentliche und spezifische Anforderungen an das Gesamtsystem und an Einzelkomponenten erarbeitet und definiert. Das Gesamtkonzept wurde in wesentlichen Teilen entwickelt. Dazu wurden auch bereits eine Reihe von Versuchs- und Messaufbauten erstellt und messtechnische Auswertungen vorgenommen.

Detaillierte Untersuchungen wurden bereits zu Funkloggern, der untersten Ebene des modularen Systems, durchgeführt. Auch hierfür wurden die Anforderungen definiert, bereits mit universell tätigen Transportunternehmen Anwendungsszenarien diskutiert und Vorortmessungen in Fahrzeugen durchgeführt. Im Jahre 2007 sind diese Untersuchungen durch speziell in der Branche tätige Anwender komplettiert worden.

Durch die Untersuchungen unter Berücksichtigung verschiedener Szenarien wurden die Bedingungen herausgearbeitet, unter denen die Funklogger arbeitsfähig sein müssen. Für diese wurde das System- und Schaltungskonzept erarbeitet und optimiert.

Ausgehend von der Erarbeitung der Gesamtanforderungen an das System und an Einzelkomponenten wurde im Jahre 2007 das Gesamtkonzept entwickelt. Umfang-



reiche Versuchs- und Messaufbauten wurden erstellt und messtechnische Auswertungen vorgenommen.

Im Ergebnis der Untersuchungen wurden spezifische energieverbrauchsarme Funklogger in der untersten Ebene des modularen Systems entwickelt, die zur Überwachung der Parameter Temperatur und rel. Feuchte während des Transportes und der Lagerung pflanzlicher Lebensmittel geeignet sind und bereits Funktionalitäten eines elektronischen Lieferscheins aufweisen. Die Versuchsmuster wurden umfangreich –auch seitens der Feuchtelabore durch die BAM- getestet und optimiert. Mehr als 20 derartige Funklogger mit proprietärem Funkprotokoll wurden für einen Realversuch aufgebaut, in Betrieb genommen und erfolgreich getestet.

Als Höhepunkt der detaillierten Untersuchungen zu den Funkloggern wurden Messungen unter Realbedingungen während eines Obsttransportes (Kirschen) vom Lager Schochwitz nach Berlin Grossmarkt (Van Wylick) Beusselstraße Ende Juni 2007 durchgeführt. Freundlicherweise erklärte sich zu diesem Transport die Firma Saaleobst bereit.

Die Auswertung der Messwerte erbrachte eine gute Eignung der Funklogger für die Aufgabenstellung. Befürchtete Funkstöreinflüsse durch das Fahrzeug waren nicht feststellbar. Die Messungen bei diesem Test dienten der Parametrierung und Optimierung der Logger. Mit diesem Test konnte der Jahres-Meilenstein 2007 für das erste Labormuster der modifizierten Funklogger erfolgreich abgeschlossen werden.

Im Anschluss an die Weiterentwicklung der Funklogger und die Implementierung weiterer Komponenten und Eigenschaften wurden Untersuchungen an LKW und Containerfahrzeugen von ausgewählten Kunden vorgenommen, die Ihre Bereitschaft zu derartigen Tests erklärt hatten. Die diesbezüglich vorgenommen Untersuchungen widmeten sich vornehmlich dem Störungsverhalten, der Kopplungsproblematik und dem Datenaustausch unter Realbedingungen und erbrachten die Eignung der Logger.

Weitere Recherchen, Untersuchungen und Entwicklungen richteten sich in diesem Zusammenhang auf die Nutzung von Kommunikationsprotokollen, die bei guter Energieeffektivität größere Reichweiten bzw. drahtlose Funkübertragung auch durch Hindernisse (Stiegen, Paletten) in größerem Umfange gestatten und zudem Standardkompatibilität aufweisen. Diese Untersuchungen fanden im Rahmen des energiearmen ZigBee-Standards statt.

Ein weiteres Hauptaugenmerk der Arbeiten richtete sich auf die Entwicklung des Datensammler- und Datentransfermoduls, an welches einerseits drahtlos an die Funklogger angekoppelt werden und welches andererseits die Möglichkeit der mobilen Übertragung der gesammelten Daten via GPRS zu einem Webserver gewährleistet. Optional wurde in das Modul ein GPS-Empfänger implementiert, der den gesammelten Daten die geografische Position hinzufügt. Dabei wird die Möglichkeit der Übertragung weiterer signifikanter Größen wie Temperatur, Feuchte, Vibration etc. aus dem Gesamt-Laderaum vorgesehen.

Die Entwicklungen hierzu und die Arbeiten zur Entwicklung des Datensammler- und Datentransfermoduls mit Anbindung an die Funklogger sind ersten Halbjahr 2008 abgeschlossen worden. Softwareentwicklungen zur Entgegennahme der Daten im Web und zur Internetvisualisierung sind anschließend durchgeführt worden.

Parallel dazu wurden, anknüpfend an vorangegangene Arbeiten im Projekt, weitere Untersuchungen zu und Entwicklungen für unter den jeweils analysierten unterschiedlichen Nutzungsbedingungen optimalen Kommunikationsprotokollen realisiert. Das Funkprotokoll muss bei guter Energieeffektivität je nach Anforderung ausrei-


chende Reichweiten bzw. drahtlose Funkübertragung auch durch dämpfende Hindernisse (Stiegen, Paletten) in größerem Umfange gestatten, als das bis dahin angedachte proprietäre Protokoll dazu in der Lage ist. Aufgrund weiterer Recherchen und Diskussionen mit potenziellen Kunden sind zudem zunehmend auch Standardkompatibilität und Kostenoptimierung insbesondere bezüglich der Endgeräte erwünscht.

Untersuchungen zu Funkstandards und Protokollvarianten

In die näheren Betrachtungen zur Funkkommunikation wurden die Funkstandards WLAN, Bluetooth, ZigBee, und nanoNet aufgenommen.

	J	5	
Leistungsmerkmal	Bluetooth	ZigBee/IEEE 802.15.4	nanoNET
Frequenz	2,402 - 2,48 GHz	868 – 868,6 MHz, 902 – 928 MHz, 2,4 – 2,4835 GHz	2,400 - 2,4835 GHz
Kanalabstand	1,000 MHz	868 MHz: entf., 915 MHz: 2 MHz, 2,4 GHz: 5 MHz	entf.
Spread-Spectrum-Verfahren	FHSS mit 1600 Hops/s	DSSS	CSS
Modulation	GFSK	868 MHz: BPSK, 915 MHz: BPSK, 2,4 GHz: O-QPSK	OOK
Sendeleistung	0 dBm, 4 dBm, 20 dBm	max. 20 dBm	-25 bis +10 dBm
Empfänger-Empfindlichkeit	–70 dBm	868 MHz: -92 dBm, 915 MHz: -92 dBm, 2,4 GHz: -85 dBm	-92 dBm
Mehrfach-Zugriffsverfahren	TDMA	CSMA/CA	Aloha, TDMA oder CSMA/CA
Datenrate	max. 2 Mbit/s	868 MHz: 20 kbit/s, 915 MHz: 40 kbit/s, 2,4 GHz: 250 kbit/s	max. 2 Mbit/s

Der WLAN-Standard wurde auf Grund des großen Overheads, der hohen Energieerfordernisse und der nur max. 3 sinnvoll betreibbaren Geräte nach Recherchen und Untersuchungen nicht weiter betrachtet.

Das Protokoll nanoNet ist gekennzeichnet von hoher Leistungsaufnahme (150 mW ... 200 mW). Nachteilig für Bluetooth ergab sich, dass



gleichzeitig nur max. sieben Verbindungen möglich sind, was den Anwendungsumfang einschränkt. Das bedeutet, dass bei einer größeren Anzahl zu konnektierender Logger partiell seriell gearbeitet werden muss. Der Energieverbrauch ist insbesondere beim Slave (ca. 200mW Senden/Empfangen bei Class1) für die vorgesehene Anwendung wie bereits berichtet, zu hoch. Allerdings sind derzeit die Entwicklungen für Bluetooth aufgrund der breiten Anwendungen (Notebook, Handy) derartig intensiviert, dass bei dem immer größeren Anwendungsumfang die Grundmodule energieärmer, miniaturisierter und preiswerter werden. Daher wurde auch diese Protokollvariante im zweiten Halbjahr auf Nutzbarkeit spezifisch energiearmer Möglichkeiten untersucht und auch hierfür Dataloggerentwicklungen vorgenommen.

ZigBee-Untersuchungen und -Entwicklungen

Ein wesentlicher Schwerpunkt der Untersuchungen war der in Relation zu den anderen energiearme ZigBee-Standard. Er ist neben der sparsamen Leistungsaufnahme gekennzeichnet von geringem Protokoll-Overhead, die Unterscheidungsmöglichkeit einzelner Gerätetypen und vor allem durch eine hohe Anzahl möglicher Netzteilnehmer. Auf Grund seiner Eigenschaften stellt dieser Standard im Vergleich zu den anderen diskutierten Varianten zunächst für die vorgegebene Aufgabenstellung die optimale Variante dar. Auf der Basis des ZigBee-Standards werden zukünftige energieeffiziente Kommunikationen zunehmend realisiert werden. Im Verlaufe der ZigBee basierenden Untersuchungen wurde eine Analyse verschiedener Realisierungsmöglichkeiten, Variantendiskussionen ausgewählter



Parameter (Zeitbezug, Speicherbedarf, Energieverbrauch) sowie von Schnittstellen und sinnvoll einsetzbaren Mikrocontrollersytemen und deren peripherer Baugruppen



bis hin zu auch autark arbeitsfähigen Dataloggern auf dieser Basis vorgenommen. Entwicklungen hierzu wurden realisiert und erste messtechnische Untersuchungen vollzogen.

Breiten Raum nahmen auch Untersuchungen zur Zuverlässigkeit der Datenübertragung, zu Übertragungsfehlern und Störeinflüssen sowie Reichweitemessungen ein. Letztere wurden unter ausgewählten realistischen Bedingungen durchgeführt, um ein Höchstmaß an Aussagekraft zu erreichen. Die diesbezüglichen Ergebnisse reichen für Datenübertragungen im Lagerraum von Fahrzeugen vollständig aus.

Nachteile des ZigBee-Standards für die betrachtete Anwendung sind die relativ hohen Kosten der Module selbst sowie Ihrer Funkzertifizierung und damit auch der Datalogger und Endgeräte, die noch zu großen Modulabmessungen und die noch relativ geringe Verbreitung. Hinzu kommt, dass keine Standard-Endgeräte existieren (Notebooks, PDA's, Handys), die über implementierte ZigBee-Module verfügen, so dass diese jeweils nachgerüstet werden müssen. Dies wiederum verursacht erhöhte Kosten.

Erweiterte Bluetooth-Untersuchungen und -Entwicklungen

Gewachsene Vorteile einer Bluetooth-Nutzung für die betrachteten Anwendungen sind die relativ niedrig gewordenen Kosten der Module selbst sowie ebenso Kosten verringernder immer breiter angebotener Vorzertifizierungen. Damit entstehen auch für Datalogger und Endgeräte niedrigere Kosten. Neben den stark gesunkenen Modulabmessungen und den in den letzten zwei Jahren dramatisch gesunkenen Initialisierungskosten ist vor allem die ansteigend hohe Verbreitung in der mobilen Technik Grund für die zunehmende Attraktivität dieser Möglichkeit. Heute enthält fast ausschließlich jedes auf den Markt kommende Handy oder ähnliches Endgerät standardmäßig Bluetooth. Mit diesen mobilen Endgeräten, die zudem seitens der Provider zumeist subventioniert werden, stehen preiswerte Geräte am Markt zur Verfügung, für die eine Einbindung in das Monitoring-System mit und ohne Datensammler lohnenswert erscheint.

Daher wurde als zusätzlicher Schwerpunkt der Untersuchungen bezüglich der Kommunikationsbasis nochmals der sich enorm ausbreitende Bluetooth-Standard aufgenommen. Bezüglich der Leistungsaufnahme ist er -wie bereits analysiert- a priori nicht optimal und muss daher spezifisch modifiziert werden, wofür der relativ hohe Protokoll-Overhead zu parametrisieren bzw. teilweise zu umgehen ist. Die

Unterscheidungsmöglichkeit einzelner Gerätetypen ist auch hier gegeben, wenn auch die Anzahl möglicher Netzteilnehmer auf sieben Hauptgeräte beschränkt ist. Dieser Standard kann im Vergleich zu den anderen Möglichkeiten bei spezifischer Gestaltung durchaus für die vorgegebene Aufgabenstellung eine sinnvolle Variante darstellen. Auf seiner Basis wird zukünftig auch energieeffizientere Kommunikation zunehmend realisiert werden können. Daher wurden durch diesbezügliche Untersuchungen eine Analyse verschiedener Realisierungsmöglichkeiten, Variantendiskussionen ausgewählter Parameter (Zeitbezug, Speicherbedarf, Energieverbrauch) sowie von Schnittstellen und Mikrocontrollern mit deren peripheren Baugruppen bis hin zur vollständigen Entwicklung derartiger Datalogger (blueDAN) vorgenommen.

Messtechnische Untersuchungen lassen darauf schließen, dass die erreichbaren Parameter für Datenübertragungen im Lagerraum von Fahrzeugen und bei vielen adäquaten Anwendungen vollkommen ausreichen und eine modulare Struktur des Monitoring-Systems ermöglicht wird. Beginnend von einfachen auf mobilen Endgeräten mit Bluetooth und Sensoren basierenden Lösungen ist ein Ausbau bis zu einem vollständigen Monitoring-System gut realisierbar.

Autarke Datalogger mit ZigBee- bzw. Bluetooth-Funkkopplung

Relevante Aktivitäten in diesem Projekt bezogen sich auf die Optimierung der auch autark arbeitsfähigen Datalogger mit ZigBee- und Bluetooth-Funkkopplung unter Einbeziehung der Lieferscheinoptionen (Eingabemöglichkeit verschiedener Daten und Parameter). Diese Option ist bei den bereits entwickelten proprietären Loggern auf Grund der minimalen Speicherkapazität stark limitiert.

Für die Varianten der auf ZigBee- und Bluetooth-Kommunikation basierenden Logger sind diesbezüglich in den entwickelten Versuchsmustern erweiterte Möglichkeiten geschaffen worden. Eingedenk der Entwicklung und Bewertung aller drei nutzbarer Varianten der Funkkopplung liegt nach Abwägung der jeweils immer auf die Anwendung bezogenen Vor- und Nachteile insbesondere wegen der breiteren Anwendungsvielfalt und der geringeren Kosten der zu entwickelnde Prototyp des Systems zumeist auf Bluetooth basierender Funkkopplung. Aus diesem Grunde wurde Mitte des letzten Bearbeitungsjahres nochmals diesen Loggern erhöhte Aufmerksamkeit geschenkt und neue Versuchsmuster davon zusammen mit angepassten Infrarot gekoppelten Loggern zur Referenzmessung in einem vom Partner ATB organisierten Feldtest, einem Transport von Tafeltrauben von Istanbul nach Wien untersucht. Auf Grund des erfolgreich verlaufenen Tests wurde im Rahmen der halbjährigen Verlängerung bis zum Dezember 2009 ein System mit Bluetooth-Loggern aufgebaut und letztendlich unter Feldbedingungen im Raum Berlin/Brandenburg getestet. Mit diesen Arbeiten stehen im Rahmen des Teilprojektes insgesamt drei entwickelte Verfahren und Systeme an entwickelten funkgekoppelten Dataloggern zur Verfügung:

- Logger auf der Basis proprietärer Funkprotokolle als die anwenderspezifisch und energetisch anpassbarsten (>20 Logger realisiert)
- Logger auf Basis des ZigBee-Standards als die für messtechnische Anwendungen kompatibelsten und energetisch günstigen (2 Logger realsiiert)
- Logger auf Bluetooth-Basis als die kostengünstigste Möglichkeit, die die meistverbreitetsten kostengünstigen Endgeräte nutzt (>20 Logger realisiert)

Alle drei entwickelten Varianten können entsprechend Ihrer spezifischen Eigenschaften ihre eigenen Anwendungsdomänen finden, wobei aus den geschilderten Kosten-



gründen Bluetooth basierten Varianten die Zukunft gehört. Die Eignung der verbreiteten Bluetooth-Technologie wurde labormäßig und im Feldtest getestet und bestätigt.

Datensammler- und -transfermodul

Die Arbeiten zur Entwicklung von Datensammler- und Datentransfermodul, an welches einerseits drahtlos die Funklogger angekoppelt werden und das andererseits die Möglichkeit der mobilen Übertragung der gesammelten Daten via GPRS/Internet zu einem Webserver gewährleisten soll, wurden auf Grund der dargestellten Ergebnisse der Untersuchungen anfangs zu ZigBee basierender und später schwerpunktmäßig auf die spezifische Bluetooth basierende Kommunikation vorgenommen. Somit ist die Schaffung eines Gesamtsystems realisiert, in dessen Datensammler- und -transfermodul ein GPS-Empfänger implementiert wurde, der den gesammelten Daten die aktuelle geografische Position hinzufügt. Dabei wurde die Möglichkeit der Übertragung weiterer signifikanter Größen wie Temperatur und Feuchte des Gesamt-Laderaums vorgesehen.



Zusätzlich zu diesen Entwicklungen wurde eine mobile Lösung geschaffen, bei der die Basisstation, der Datensammler durch ein ausgewähltes bluetoothfähiges Handy realisiert wird, welches die Funktionen Dateneingabe, Auslesen der Daten aus den Loggern, GPS-Positionserfassung und Übertragung zum Webserver übernehmen kann. Kurzfristig wurde auf Initiative des ATB zusätzlich zu dem implementierten elektronischen Lieferschein die Mitführung des jeweils aktuellen Mittelwertes der permanent ermittelten Temperatur (Temperatur x Zeit), "Temperatursumme" vorgesehen. An jedem Transportabschnitt, dem der Lieferschein zugeordnet ist, kann eine Ergänzung dieses Wertes vorgenommen werden. Die Endgeräte (Blackberry) erlauben durch eine entsprechende Programmierung den elektronischen Lieferschein mit dieser zusätzlichen "Temperatursumme" an weitere Datalogger zu übergeben. Bis zu 64 derartiger Lieferscheine sind pro Logger speicherbar. Damit wird es möglich, auf einem Logger vergangene und weiterführende Parameter zu verfolgen, die entsprechenden Verantwortlichkeiten nachzuvollziehen und letztendlich die Resthaltbarkeit an den Übergabestellen aktuell zu bestimmen.

Mit diesem mobilen autonomen System kann auf spezifische Installationen im Fahrzeug verzichtet und damit die Kundenakzeptanz auch bei Subunternehmereinsätzen bewirkt werden. Dieses mobile System wurde auch dafür ausgelegt, Informationen zur aktuellen Haltbarkeit und Qualität von verderblichen Waren auf der Basis der gemessenen Werte zu berechnen und durch Kopplung mit dem ATB-Webserver entsprechende Algorithmenergebnisse zu verarbeiten.





Das System wurde mit einem Handy vom Typ Blackberry in einem Feldtest zum Abschluss des Projektes erfolgreich getestet. Zu diesem Zweck wurde zusätzliche Software für Webserver und Handy erstellt.

Zusammenfassung

Die Ziele des Teilprojektes wurden vollständig erreicht. Neben den vorgesehenen Recherchen, Untersuchungen, Konzept- sowie Hard- und Softwareentwicklungen wurden funkgekoppelte Datalogger in den drei Varianten proprietär, ZigBee und Bluetooth erfolgreich entwickelt und untersucht. Proprietären Funkprotokollen ist für spezifisch ausgelegte, besonders energiearme Systeme der Vorrang zu geben, während anspruchsvolle und energiearme mit hoher Standardkompatibilität in ZigBee auszulegen sind. Wegen der positiven Preisentwicklung und immer stärkeren Verbreitung am Markt sollten Systeme für Standardanwendungen und mobile Systeme sinnvollerweise Bluetooth basierend ausgelegt werden. Reale Untersuchungen und Feldtests ergaben, dass die damit erreichbaren Parameter für Datenübertragungen im Lagerraum von Fahrzeugen und bei vielen adäquaten Anwendungen in der Regel vollkommen ausreichen.

Die realisierte modulare Struktur des Monitoring-Systems ermöglicht beginnend von einfachen auf mobilen Endgeräten mit Bluetooth und Sensoren basierenden Lösungen den kundenspezifischen Ausbau bis zu einem vollständigen und komfortablen Monitoring-System.

Mit den Arbeiten wurde sowohl die Entwicklung autarker funkgekoppelter Datalogger als auch eines modularen Gesamtsystems realisiert, in dem Datensammler- und –transfermodul optional auch mobil über Handy- oder PDA-Lösungen ausgeführt werden können.

Den erfassten Daten kann optional die aktuelle geografische Position entweder per GPS-Modul im installierten Datensammler oder mobil mittels GPS-Handyausführung mit entsprechendem Softwaremodul hinzufügt werden. Die Möglichkeit der Übertragung weiterer signifikanter Größen ist durch modulare Erweiterung möglich.

3. Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse

Die im Projektantrag erläuterten Vorhaben und Maßnahmen zur wirtschaftlichen Umsetzung und Verwertung der Projektergebnisse haben auch zu Projektabschluss volle Gültigkeit. Insbesondere sind für das Monitoringsystem hervorzuheben:

- Schaffung eines marktfähigen Produktes für ein modulares Monitoringsystem aus den Projektergebnissen (geschätzter Aufwand ca. 1 Personenjahr, Realisierung durch die ESYS GmbH in Zusammenarbeit mit dem ATB und der BAM)



- Produktion/Serienfertigung und Vertrieb durch die ESYS GmbH mit Unterstützung durch die Projektpartner (Preis ca. 150 EUR pro Funk-Datalogger und ca. 500 EUR pro Datensammler)
- Nutzung des durch das Projekt erlangten Know-Hows für andere Entwicklungsaufgaben und zukünftige weitere Produkte der ESYS GmbH

Datalogger finden heute überall dort Anwendung, wo Messwerte autonom registriert, elektronische Nachweise geführt und Parameter- bzw. Qualitätsüberwachungen vorgenommen werden müssen. Dies gilt in der Energie- und Wasserwirtschaft, in der Hausund Klimatechnik, in der Umwelttechnik, in der industriellen Prozesstechnik, im Verkehrs- und Transportwesen und in besonderem Maße beim Monitoring sensibler Güter.

Anwendungen von Dataloggern sind daher in verschiedensten Segmenten zu finden. Diese heterogene Struktur ist positiv bzgl. des Anwendungsumfanges zu werten, erschwert aber andererseits durch die Segmentvielfalt seine tiefere Durchdringung.

Wie der Markt vergrößert sich auch ständig das Spektrum der Anbieter, so dass eine verschärfte Wettbewerbssituation vorhanden ist. Heute agieren am deutschen Markt über 50 ernstzunehmende Datalogger-Anbieter.

Daher ist es, um vorhandene Marktanteile zu halten oder zu erweitern, dringend geboten, den Markterfordernissen flexibel Rechnung zu tragen und den Stand der Technik zumindest mitzubestimmen.

Dies ist mit dem erfolgreich bearbeiteten Projekt gelungen, da zum einen die Parameter von Dataloggern, insbesondere seine drahtlose Koppelbarkeit stark durchdrungen werden konnten und es zum anderen dadurch möglich wurde, diese in zu installierende und mobile Monitoringsysteme zu implementieren. Gelingt es in der folgenden Zeit im Rahmen der Entwicklung zur Serienreife, die Preise für diese Monitoringsysteme bei akzeptablen Werten anzusiedeln, würden sich gute Absatzmöglichkeiten eröffnen.

Der Markt für die Miniaturlogger bezieht sich auf die Qualitätsüberwachung sensibler Produkte und Güter, für die sich die Notwendigkeit der Eigenschaftsüberwachung auf dem Weg von der Herstellung bis zum Endkunden ergibt. Nimmt man allein aus der im priorisierten Frischeund Kühllogistik die Lebensmittelüberwachung Projekt insbesondere während des Transports, so kann allein für dieses Segment in Deutschland ein zukünftiger Gesamtbedarf von über 200.000 Stück pro Jahr unter Berücksichtigung der Wiederverwendbarkeit abgeschätzt werden, wenn man davon ausgeht, dass wenigstens pro Palette oder Produktgruppe ein Datalogger zur Nachweisführung vorgesehen werden muss. Unter Annahme von dann ebenfalls am Markt verfügbaren Wettbewerbsprodukten soll als realistische Größe von einer möglichen Umsatzgröße von ca. 20.000 Stück Dataloggern pro Jahr ausgegangen werden. Hinzu kämen andere sensible Transportbereiche wie für medizinische (z.B. Blutkonserven) und chemische Substanzen, die hier nicht einberechnet wurden.

Insofern kann von guten Chancen bei der wirtschaftlichen Umsetzung ausgegangen werden, wobei die Preiskalkulation einen wesentlich beeinflussenden Faktor darstellt.

Bezüglich der wissenschaftlich/technischen Erfolgsaussichten nach Projektende kann die Schlussfolgerung abgeleitet werden, dass die gewonnen Erkenntnisse über die Möglichkeiten der verschiedenen Arten funkgekoppelter und energiearmer Auslegung nicht nur für Datalogger von Bedeutung sind, sondern auf andere elektronische Systeme transferiert werden können und somit das Haupttätigkeitsfeld der ESYS GmbH, energieminimierte mobile Systeme, insgesamt stark beeinflussen werden.

Vor allem aber wird die Schaffung des als ein Projektziel fixierten autarken Monitoringsystems in mobiler und fixer Auslegung auch für andere Systeme interessant



sein und damit Bereiche befruchten, die durch adäquate Einsatzanforderungen charakterisiert sind.

Somit kann eingeschätzt werden, dass der erfolgreiche Projektabschluss auch für andere Bereiche der elektronischen Systementwicklung Nutzen bringen kann.

<u>Veröffentlichungen</u>

Seitens der Projektpartner wurden Publikationen veröffentlicht, zu denen von ESYS Zuarbeiten erfolgten. ESYS selbst publizierte Projektinhalte zum einen durch Präsentationen und Workshops vor ausgewählten potenziellen Kunden und Multiplikatoren und zum anderen auf Messen (teilweise mit dem Partner ATB) im Jahre 2009 vorgenommen:

- Fruit Logistica Berlin Januar 2009
 - CeBIT Hannover März 2009
- Hannover-Messe Hannover April 2009
- Transport-Logistik München Mai 2009
- Agritechnica Hannover November 2009

Zukünftig vorgesehen sind weitere Veröffentlichungen in Branchen- und Fachzeitschriften für (Frische-)Logistik, Transport sowie für Qualitätsmanagement und temperaturgeführte Transporte und Güter. Außerdem sollen die Projektinhalte gemeinsam mit den Partnern auch zukünftig auf Messen, Ausstellungen und Workshops sowie das Produkt selbst bei potenziellen Kunden direkt präsentiert werden.



Anlage: Bilder zum mobilen Datensammler-System auf Blackberry-Basis <u>Software auf Blackberry:</u>



Lieferschein

Messwerte grafisch



Routenausschnitt Feldtest 1. bis 4. Dezember 2009 (ESYS-MAPSERVER)



Bluetooth gekoppelter Lieferschein-Datalogger blueDAN



im Kunststoffgehäuse (92 x 62 x 11) mm³

1. Beitrag der Ergebnisse zu den förderpolitischen Zielen

Das Vorhaben wurde eingebettet in das Gesamtvorhaben zum Themengebiet "Kartoffel-, Obst- und Gemüseproduktion" und hinsichtlich der strategischen Ausrichtung der "Anwendung, Anpassung und Entwicklung neuer Sensoren zur Kontrolle relevanter Prozesse" zugeordnet. Als FuE-Kooperation zwischen dem ATB Potsdam mit dem Unterauftragnehmer BAM Berlin und dem kleinen KMU ESYS GmbH Berlin bewirkt es eine steigende FuE-Intensität FuE-Intensität der Unternehmen und somit eine Stärkung des innovativen Potenzials in Berlin / Brandenburg.

Im Nacherntebereich kann durch die Anwendung innovativer Funkdatalogger im Rahmen der Projektergebnisse ein wesentlicher Beitrag zur Verbesserung der Nachhaltigkeit in der Wertschöpfungskette am Beispiel der Obstund Gemüseproduktion geleistet werden. Durch die Bereitstellung von maßgeblichen Informationen zum Produktzustand an jedem beliebigen Punkt in der Nacherntekette, kann gewährleistet werden, dass die beteiligten Akteure (Erzeuger, verschiedene Händler, Verbraucher) ihre speziellen Möglichkeiten für eine deutliche und quantifizierbare Einflussnahme zur gualitativen Verbesserungen entlang der Verarbeitungskette bis zum Verbraucher gezielt nutzen und ausbauen können. Es wird zudem erwartet, dass durch die zusätzlichen Informationen potentiell vorhandene Vorteile von regional erzeugten Produkten deutlicher herausgearbeitet werden können und sich damit deren Absatzchancen auch jenseits der Direktvermarktung verstärken.

Ein wesentliches Ziel ist die Verringerung von Verlusten und Qualitätseinbußen. Alle Nachernteverluste bei Obst und Gemüse sind in engem Zusammenhang mit den Aufwendungen für die Produktion zu sehen. Neben den direkten Aufwendungen für die Abfallentsorgung (Produkt und Verpackung) können energetische Aufwendungen für die Aussaat, Transport, Ernte und Aufbereitung, materielle und energetische Aufwendungen für die Verpackungen, Wasserverbrauch für die Anzucht und Aufbereitung sowie Umweltbelastungen durch Düngung und Schädlingsbekämpfung durch die Vermeidung von Nachernteverlusten in erheblichem Maße reduziert werden.

Die in dem Vorhaben erarbeiteten Lösungen für verschiedene funkgekoppelte Datalogger und für mobile und fixe Monitoringsysteme inkl. Fernortungsoption stärken die Fachkompetenz auf dem Gebiet Informations- und Kommunikationstechnik sowie der mobilen Messtechnik, die Innovationskompetenz und vergrößern die Produktpalette der ESYS GmbH. Die fachlichen Kompetenzen auf diesem Spezialgebiet der Datalogger werden durch die Zusammenarbeit des ATB, der BAM und der ESYS GmbH gebündelt. Es ist zu erwarten, dass diese Verbesserung des Know-Hows und die Erschließung weiterer Anwendungsfeldern an der ESYS GmbH Arbeitsplätze sichern sowie den Umsatz erhöhen wird.

Die erfolgreich entwickelte neuartige Lösung für das Monitoringsystem mit Bluetooth-Funkloggern stellt, wie in den förderpolitischen Zielen gefordert, die Umsetzung einer technologischen Neuentwicklung einer Produktgruppe dar, wobei die Lösung selbst darüber hinaus zur Ableitung neuer Anwendungsbereiche für diese Datalogger führen wird.



2. Wissenschaftlich-technische Ergebnisse und Erfahrungen

Hauptergebnis des Vorhabens ist die Entwicklung eines festinstallierbaren und eines mobilen Monitoringsystems, das bei Transport und Lagerung sensibler Produkte, insbesondere Obst und Gemüse bzw. ähnlicher Lebensmittel eine lückenlose Kontrolle und Überwachung deren wesentlicher Parameter gestattet, Verantwortlichkeiten an verschiedenen Abschnitten registriert, und Aussagen zur Haltbarkeit und Qualität treffen kann.

Im Rahmen dieser erfolgreich gelösten Aufgabe ergeben sich eine Reihe von damit verbundenen wissenschaftlich-technischen Ergebnissen und Erfahrungen im Teilprojekt der System- und Schaltungstechnik:

- Entwicklung von Funkloggern nach unterschiedlichen Technologien und Protokollen, um optimale Aussagen zu wesentlichen Eigenschaften wie Datentransfer, Störverhalten, Leistungsumfang und Energieverbrauch zu erreichen
- Entwurf eines proprietären Funkprotokolls zur energieminimalen Kommunikation mit Anbindung an ein Standardprotokoll
- Entwurf einer energiesparenden Technologie zur Nutzung des weitverbreiteten und kostengünstigen Bluetooth-Standards
- Erarbeitung einer Technologie zur effektiven mobilen Auslegung des Gesamtsystems, so dass unter bestimmten Bedingungen auf eine Installation des Systems verzichtet werden kann. Dies erweitert die Anwendungsmöglichkeiten.
- Entwicklung eines modularen Konzepts für das Monitoringsystem, um eine flexible Anpassbarkeit an die Anforderungen der Anwender zu gewährleisten

Insgesamt wurden im Rahmen der Projektarbeiten entscheidende Erkenntnisse gewonnen, die Innovationen für die Einrichtungen und im internationalen Vergleich darstellen und damit das zu entwickelnde Endprodukt noch weiter aufwerten.

3. Fortschreibung des Verwertungsplanes

Für die Nutzung der gewonnenen Ergebnisse bzw. die Verwertung der abgeleiteten Produktes gelten folgende Schwerpunkte:

- Schaffung eines marktfähigen Produktes "Monitoringsystem mit funkgekoppelten Dataloggern"
- Nutzung von Teilsystemen wie Bluetooth basierten Dataloggern durch Ableitung von Produkten
- Nutzung der durch das Vorhaben erlangten Kenntnisse und des gewonnenen Know Hows für weitere Bereiche des Unternehmens

Schaffung eines marktfähigen Produktes

Für die Abschätzung der Aufwendungen zur Schaffung eines marktfähigen Produktes für einen energieautarken umweltfreundlichen Datalogger werden aus heutiger Sicht ein Zeitraum von etwa 1 Jahr und Kosten (insbes. Personalkosten) von ca. 60 TEUR, für die Produkteinführung ein Bedarf von zusätzlich 20 TEUR abgeschätzt. Die entsprechende Finanzierung für die Aufwendungen soll von ESYS verantwortet werden, die auch das Endprodukt vertreten. Die Produktion/Serienfertigung soll von ESYS getragen werden.



Das ATB und die BAM unterstützen dabei die ESYS GmbH entsprechend ihrer Möglichkeiten.

Meilensteine:

- ab III / 2010 Aktivitäten im primären Marktsegment
- II-IV / 2010 Optimierung des Prototypen und Geräteentwicklung
- I-II / 2010 Messeaktivitäten, Mailingaktionen, gezielte Kundenkontakte und Präsentationen
- I II / 2011 Erarbeitung weiterer Marktsegmente (Umwelt, Industrie)
- I-II / 2011 Nullserie / Optimierung
- ab II / 2011 Serienproduktion und laufende Vermarktung

<u>Vertriebsstrategie</u>

Der Vertrieb wird zum einen über entsprechende Informationen an bestehende Stammund Altkunden bzw. Pilotkunden aus der Transportbranche aktiviert und organisiert werden; zum anderen ist eine Neuorganisation in Bereichen, die bisher nicht zu Marktsegmenten der ESYS GmbH zählten, vorgesehen.

Die Distribution selbst soll in zwei Richtungen vorgenommen werden:

- 1. Direkter Vertrieb der Monitoringsysteme an Transport-, Logistik- und Nahrungsgüterunternehmen, Verbraucherketten, Medizin-, Industrie- und Umwelteinrichtungen.
- 2. Vertrieb über Großdistributoren

Insbesondere auch Großkunden sollen gewonnen werden. Potentielle Kunden sind aus den Anwendungsfeldern auszuwählen. Durch Präsentationen, Mailings und Anzeigen in Fachzeitschriften aber auch durch eine Vielzahl persönlicher Kontakte sollen diese Großkunden akquiriert werden. Zur Umsetzung dieses strategischen Konzeptes ist ein flexibles Herangehen notwendig, um kostenminimierend zu wirken.

Nutzung von Teilsystemen

Die Kooperationspartner beabsichtigen, Teilsysteme des Dataloggersystems wie den Bluetooth basierten Datalogger blueDAN, evtl. auch Datalogger anderer Funktechnologien (wie ZigBee) im Rahmen anderer Produkte und Systeme zu nutzen und in solche einzubeziehen. So wären beispielsweise die Nutzung eines autarken Bluetooth-Dataloggers als eigenständiges Gerät z. B. Temperatur-/Feuchte-Registrierung und –Überwachung in Umwelttechnik, medizinischer Technik bzw. die eingebundene Nutzung anderen Systemen vorstellbar.

Nutzung erlangter Kenntnisse und gewonnenen Know-Hows

Die Projektbearbeitung erbrachte mannigfaltige Erkenntnisse und Erfahrungen für den Entwurf energieminimierter Baugruppen allgemein und zur Entwicklung energiearmer Funksysteme im Besonderen. Dieses Know-How werden die Projektpartner im Rahmen ihrer Tätigkeitsfelder umfänglich nutzen und so fruchtbringend sowohl für Entwicklungsleistungen als auch für Produkte anwenden.

Schutzrechtliche Anmeldungen

Im Rahmen der Arbeiten und Untersuchungen zur Kommunikationsschnittstelle, zur Funkübertragung und zum Funkdatenlogger sowie zum gesamten Monitoringsystem wurde seitens der ESYS GmbH selbst keine schutzrechtliche Anmeldung getätigt.



Weiterführende Arbeiten

Eine Weiterführung der Arbeiten ist hinsichtlich folgender Schwerpunkte denkbar:

- 1. Qualifizierung und Vervollkommnung des entwickelten Monitoringsystems zur Erschließung weiterer Anwendungsbereiche insbesondere im Hinblick auf Modularität, intelligente Verarbeitung und Energieminimierung sowie kompatible Schnittstellen.
- 2. Fortführung der konsequenten Energieminimierung an elektronischen Baugruppen durch Anwendung des entwickelten Verfahrens zur Energieminimierung durch dynamisches intelligentes Powermanagement in Verbindung mit Feinanalysen und -synthese bei der Ablaufsteuerung
- 3. Schaffung einer modularen Struktur von Sensor, Logger- und Datensammler-Baugruppen zur optimalen Anpassung an bestehende kundenspezifische Anforderungen
- 4. Weiterführung der lückenlosen Erfassung relevanter Produktparameter zur Schaffung wirksamer Systeme zur nachhaltigen Qualitätsprognose und -sicherung.

4. Arbeiten, die zu keiner Lösung geführt haben

Die gestellten Ziele und Leistungen wurden vollständig erbracht.

5. Präsentationsmöglichkeiten für mögliche Nutzer

Abgesehen von der vorgesehenen Öffentlichkeitsarbeit sind die Ergebnisse bei den Projektpartnern nach Terminabstimmung jederzeit einsehbar.

6. Einhaltung der Kosten- und Zeitplanung

Die Projektbearbeitungszeit wurde kostenneutral bis zum 31. 12. 2009 auf Initiative des ATB und in Abstimmung mit dem Projektträger verlängert. Dies erlaubte im Teilvorhaben weitere Optimierungen vorzunehmen, das mobile System zu vervollkommnen und weitere Feldtests durchzuführen.

Die Kostenplanung wurde um etwa 17% (=ca. 42 TEUR) überschritten. Ursachen hierfür waren

- Personalkosten (11% = ca.25 TEUR)
 Erhöhung der Gehälter bei ESYS im Juli 2008, Verlängerung der Projektdauer
- Material (90% = ca.11 TEUR)
 Erneblich höhere Anzahl von Versuchsaufbauten für Untersuchungen
 Entwicklung zweier Monitoring-Systeme (fest installiertes und mobiles)
- Reisekosten (145% = 5,2 TEUR)
 Im Jahre 2009 wurde eine Messeteilnahme an der Transport-Logistik in München im Rahmen eines Partnerstandes realisiert

Aus Sicht der ESYS GmbH waren diese Mehraufwendungen unverzichtbar. Sie werden aus den erhöhten Eigenleistungen getragen.

Bezüglich der fertigungstechnisch erfolgreichen technologischen Umsetzung und Herstellung der Serienreife wird eingeschätzt, dass noch Aufwendungen von ca.1 Personenjahr notwendig werden.