

Untersuchungen zur Apfelqualität mit Nahinfrarotspektroskopie

Daniela Eisenstecken, Barbara Stürz, Oswald Rossi, Angelo Zanella, Peter Robatscher, Michael Oberhuber, Versuchszentrum Laimburg

Wir haben in den letzten Jahren effiziente, schnelle und nicht-destruktive Methoden zur Qualitätskontrolle von Lebensmitteln erforscht. Eine der vielversprechendsten ist die Nahinfrarotspektroskopie.

Nahinfrarotspektroskopie

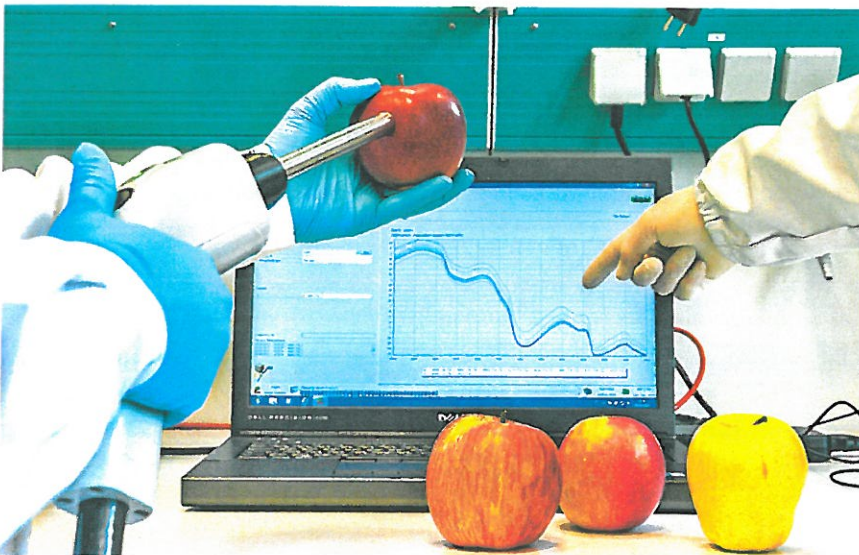
Bei der Nahinfrarotspektroskopie (NIRS) regen elektromagnetische Wellen im Bereich oberhalb des sichtbaren roten Lichts, also zwischen 800 bis 2.500 nm (Nanometer), die Moleküle zum Schwingen an. Die Inhaltsstoffe der Nahrungsmittel, wie etwa die Stärke, die Zucker oder das Wasser, sind Moleküle.

Die Nahinfrarotspektroskopie kann sowohl für flüssige als auch feste Proben angewandt werden. Bei festen Proben, wie Äpfeln, werden die reflektierten Lichtwellen als sogenanntes Nahinfrarotspektrum über eine Faseroptik übertragen; es erlaubt Rückschlüsse auf die Probenzusammensetzung. Das Nahinfrarotspektrum ermöglicht über den Vergleich mit den Spektren vieler

Proben die quantitative und qualitative Vorhersage von Inhaltsstoffen. Im Fall des Apfels können durch die nicht-destruktive Analyse eine Reihe von Qualitätsparametern vorhergesagt werden. Dazu werden mithilfe von statistischen Auswertungsverfahren mathematische Modelle erstellt, die für die Prognose von neuen Proben genutzt werden können. Wichtig ist dabei, dass diese Modelle einen engen Zusammenhang zwischen den Ergebnissen der spektroskopischen Messung und den Inhaltsstoffen aufweisen. Dieser Zusammenhang muss mit den genannten Vergleichsspektren von Proben mit bekannten Inhaltsstoffen hergestellt werden, was für eine Reihe von Obstsorten und anderen Lebensmitteln in der wissenschaftlichen Literatur beschrieben ist.

Anwendung bei Äpfeln

Die Anwendung der Nahinfrarotspektroskopie bei Äpfeln wurde schon in mehreren Projekten am Versuchszentrum Laimburg untersucht, unter anderem im Regionen-übergreifenden Projekt „OriginAlp“, das durch das Interreg-IV-Programm Italien-Österreich der EU finanziert wurde. Ziel des Projekts war es, den Mehrwert regionaler alpenländischer Produkte wie Äpfel, Milch, Käse und Fleisch durch schnelle Analysenmethoden für die Qualitäts- und Herkunftsbestimmung zu steigern. In Südtirol ist Golden Delicious die am häufigsten kultivierte Apfelsorte und macht 36% der gesamten Apfelproduktion aus. Diese Apfelsorte wird in verschiedenen Höhenlagen von 200 m bis zu 1.000 m Meereshöhe (Mh.) angebaut. Aus diesem Grund wurde diese Sorte für die Untersuchung und Erstellung von Modellen von verschiedenen Reife- und Qualitätsparametern wie Stärkegehalt, Gesamtzucker und Festigkeit mittels der nicht-destruktiven Nahinfrarotspektroskopie ausgewählt. Um eine möglichst breite Streuung der verschiedenen zu untersuchenden Parameter zu erhalten, wurden in der Saison 2013/2014 die Früchte in einer Zeitspanne von sechs Wochen während der Erntephase von tiefen (≈ 225 m ü. d. M.), mittleren (≈ 650 m ü. d. M.) und hohen (≈ 1.000 m ü. d. M.) Lagen gepflückt (Tabelle 1, S. 24). Zuerst wurde von allen Früchten das Nahinfrarotspek-



Aufnahme der Nahinfrarotspektren am ganzen Apfel am Versuchszentrum Laimburg.

trum aufgenommen und anschließend wurden durch klassische Labormethoden Stärkegehalt, Gesamtzucker, Gesamtsäure und einzelne Kohlenhydrate (Glukose, Fruktose, Saccharose und Sorbitol) sowie organische Säuren (Apfelsäure und Zitronensäure) bestimmt. Darüber hinaus wurde die Fruchtfleischfestigkeit mit einem Penetrometer gemessen. Es wurde gezielt darauf geachtet, dass die Äpfel der verschiedenen Höhenlagen im gleichen Reifestadium gepflückt wurden. Jene Apfelproben, die in den letzten vier Wochen des Erntezeitraums geerntet wurden, lagerten jeweils für vier Monate in kontrollierter Atmosphäre (ULO – Ultra Low Oxygen: O₂ 1%, CO₂ 2,5%; 1,3 °C und ≈ 95% relative Feuchtigkeit). Nach der Auslagerung wurde das Nahinfrarotspektrum erfasst und die Parameter Fruchtfleischfestigkeit, Gesamtzucker, Gesamtsäure, Kohlenhydrate und organische Säuren erneut gemessen. Die gleichen Analysen wurden nach sechs Tagen Nachreifung bei Raumtemperatur erneut durchgeführt.

Ergebnisse

Stärkegehalt

Der Stärkeabbau in Proben von an unterschiedlichen Erntezeitpunkten geernteten Äpfeln wurde mittels einer enzymatischen Methode verfolgt, um genaue Referenzwerte für die Kalibrierung der Spektren zu erhalten. Die Resultate des enzymatischen Tests kor-

Grafik 1: Typische Nahinfrarotspektren von Äpfeln der Sorte Golden Delicious im Bereich von 1.000 bis 2.500 nm. A: Rohdaten, B: Normalisierte Spektren, C: Erste Ableitung der Spektren.

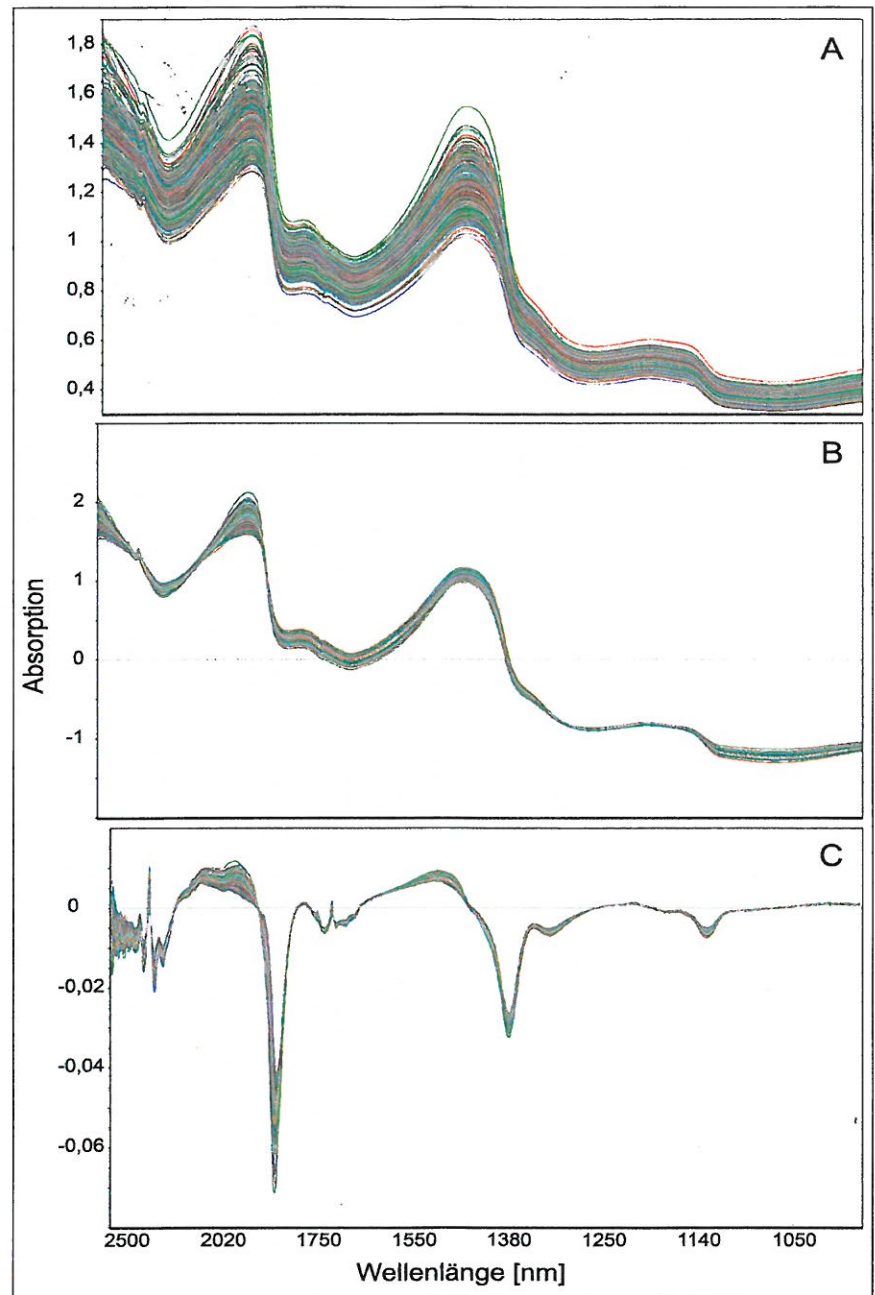
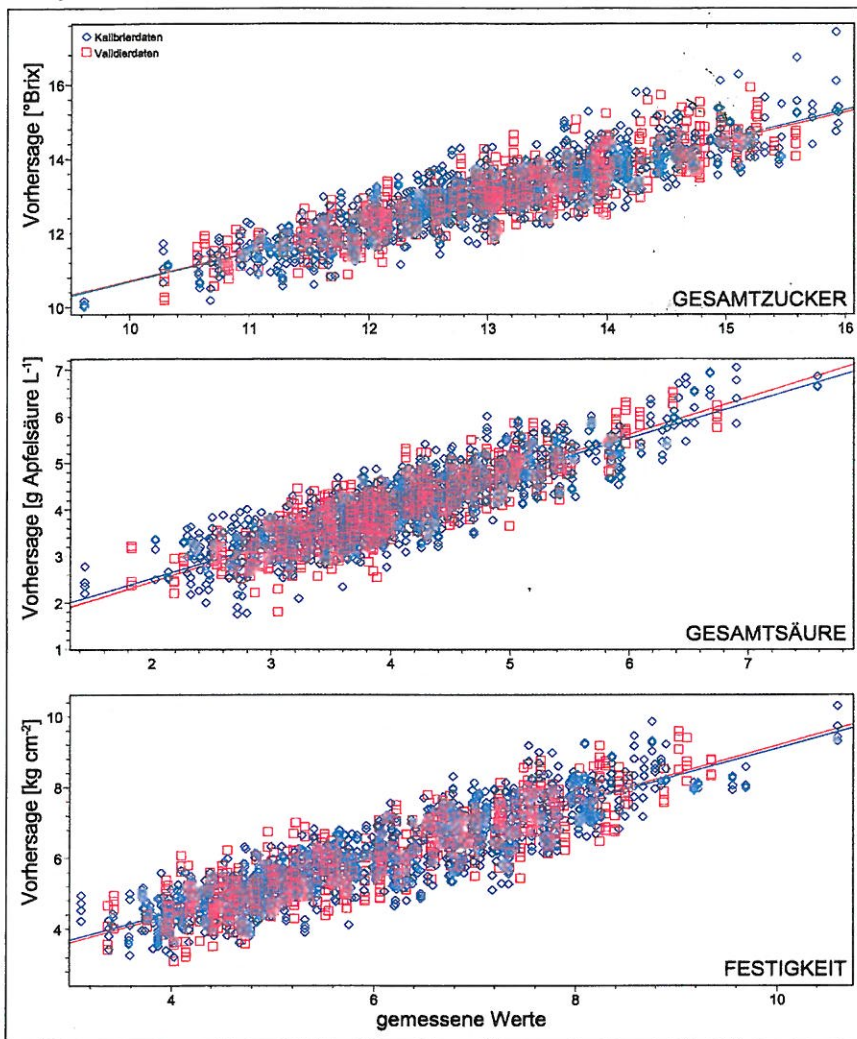


Tabelle 1: Erntedaten der Golden Delicious-Proben. Pro Lage wurden zwei Anlagen beprobt.

Lage	Erntetermine 2013					
	2 Wochen früher	1 Woche früher	optimal	1 Woche später	2 Wochen später	3 Wochen später
tief 225 m ü. d. M. Auer/Tramin	05.09.	12.09.	17.09.	23.09.	30.09.	07.10.
mittel 650 m ü. d. M. Kastelbell	-	23.09.	02.10.	08.10.	15.10.	22.10.
hoch 1.000 m ü. d. M. Tartsch	30.09.	03.10.	09.10.	16.10.	23.10.	29.10.

Grafik 2: Darstellung der Vorhersagemodelle für die drei Hauptqualitätsparameter Gesamtzucker, Gesamtsäure und Festigkeit (blau = Kalibrierdaten, pink = Validierdaten).



relierten ($r^2 = 0,8$) mit den Resultaten der üblichen visuellen Methode mit Jodid zur Evaluierung des Stärkeindex. Bevor die Nahinfrarotspektren für die Erstellung der Modelle herangezogen

werden konnten, mussten sie mit mathematisch-statistischen Methoden vorbehandelt werden. Dies ist notwendig, da die Nahinfrarotspektren breite Banden aufweisen (Grafik 1A)

und die wichtigen Informationen über die Inhaltsstoffe in den kleinen Unterschieden zwischen den Spektren zu finden sind. Um diese feinen Unterschiede herauszuarbeiten, wurden die Spektren zuerst normalisiert. Man korrigiert dabei durch ein mathematisches Verfahren die Lichtstreuungseffekte, die durch Unebenheiten in der Probe oder ein unterschiedliches Auflegen der Faseroptik entstehen können, und minimiert so das „Rauschen“ in den Spektren (Grafik 1B). Außerdem wurden oftmals Ableitungen der Spektren genutzt, denn auch diese mathematischen Verfahren eignen sich sehr gut, um die kleinen Unterschiede herauszuarbeiten. Wie in Grafik 1C deutlich sichtbar wird, liegen dadurch schärfere Banden vor und Variationen in der Intensität sind bei bestimmten Wellenlängen deutlich sichtbar.

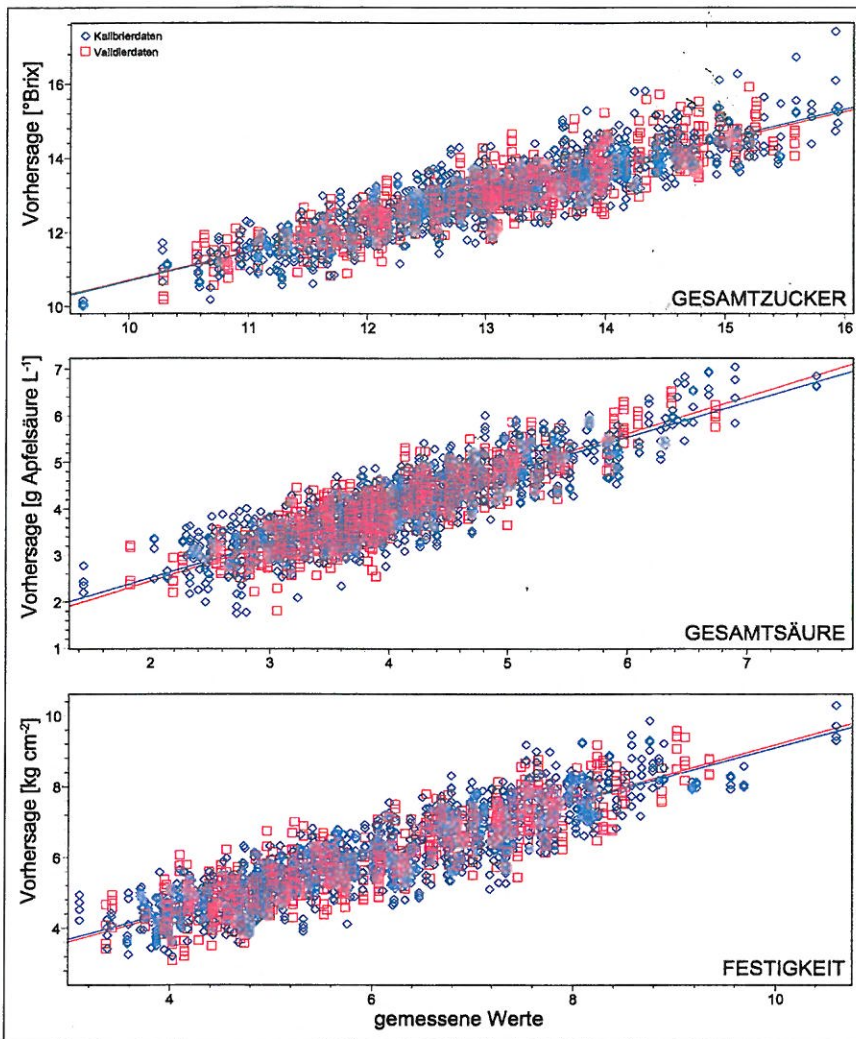
Die Güte eines Modells wird anhand von verschiedenen statistischen Kenngrößen bewertet. Im Folgenden sollen die wichtigsten Kenngrößen kurz vorgestellt werden:

- Das **Bestimmtheitsmaß** (r^2) gibt die Qualität des Zusammenhangs zwischen Spektren und Inhaltsstoffen an. Es ist eine Maßzahl, die nicht kleiner als 0 und nicht größer als 1 sein kann. Wenn das Bestimmtheitsmaß nahe 0 liegt, spricht man von einem „schlechten linearen Zusammenhang“. Bei Werten nahe 1 spricht man von einem „guten linearen Zusammenhang“. Für gute quantitative Vorhersagemodelle durch Nahinfrarotspektren

Tabelle 2: Kenngrößen der erstellten Vorhersagemodelle für die nicht-destruktive Messung der Qualitätsparameter mit einem Nahinfrarotspektrometer.

Parameter	Wertebereich	Anzahl Äpfel	r^2	RMSEP	RPD	Referenzmethode
Gesamtzucker [° Brix]	9,6 – 15,9	499	0,8	0,6	2,0	Refraktometer
Gesamtsäure [g/l]	1,4 – 7,6	504	0,8	0,5	2,2	Titration
Festigkeit [kg/cm ²]	3,1 – 10,6	506	0,8	0,7	2,1	Texture Analyzer
Stärke [g/100 g]	0,1 – 10,78	159	0,8	1,1	2,4	Enzymatische Methode
Saccharose [g/100 g]	0,3 – 4,6	392	0,8	0,5	2,1	Flüssigchromatographie
Fruktose [g/100 g]	2,9 – 11,4	400	0,3	1,4	1,2	Flüssigchromatographie
Glukose [g/100 g]	0,4 – 2,9	398	0,5	0,4	1,4	Flüssigchromatographie
Sorbitol [g/100 g]	0,05 – 0,6	410	0,4	0,07	1,1	Flüssigchromatographie
Apfelsäure [mg/100 g]	166,4 – 738,2	392	0,6	69,2	1,5	Flüssigchromatographie
Zitronensäure [mg/100 g]	0,6 – 10,2	399	0,5	1,3	1,5	Flüssigchromatographie

Grafik 2: Darstellung der Vorhersagemodelle für die drei Hauptqualitätsparameter Gesamtzucker, Gesamtsäure und Festigkeit (blau = Kalibrierdaten, pink = Validierdaten).



relierten ($r^2 = 0,8$) mit den Resultaten der üblichen visuellen Methode mit Jodid zur Evaluierung des Stärkeindex. Bevor die Nahinfrarotspektren für die Erstellung der Modelle herangezogen

werden konnten, mussten sie mit mathematisch-statistischen Methoden vorbehandelt werden. Dies ist notwendig, da die Nahinfrarotspektren breite Banden aufweisen (Grafik 1A)

und die wichtigen Informationen über die Inhaltsstoffe in den kleinen Unterschieden zwischen den Spektren zu finden sind. Um diese feinen Unterschiede herauszuarbeiten, wurden die Spektren zuerst normalisiert. Man korrigiert dabei durch ein mathematisches Verfahren die Lichtstreuungseffekte, die durch Unebenheiten in der Probe oder ein unterschiedliches Auflegen der Faseroptik entstehen können, und minimiert so das „Rauschen“ in den Spektren (Grafik 1B). Außerdem wurden oftmals Ableitungen der Spektren genutzt, denn auch diese mathematischen Verfahren eignen sich sehr gut, um die kleinen Unterschiede herauszuarbeiten. Wie in Grafik 1C deutlich sichtbar wird, liegen dadurch schärfere Banden vor und Variationen in der Intensität sind bei bestimmten Wellenlängen deutlich sichtbar.

Die Güte eines Modells wird anhand von verschiedenen statistischen Kenngrößen bewertet. Im Folgenden sollen die wichtigsten Kenngrößen kurz vorgestellt werden:

- Das **Bestimmtheitsmaß** (r^2) gibt die Qualität des Zusammenhangs zwischen Spektren und Inhaltsstoffen an. Es ist eine Maßzahl, die nicht kleiner als 0 und nicht größer als 1 sein kann. Wenn das Bestimmtheitsmaß nahe 0 liegt, spricht man von einem „schlechten linearen Zusammenhang“. Bei Werten nahe 1 spricht man von einem „guten linearen Zusammenhang“. Für gute quantitative Vorhersagemodelle durch Nahinfrarotspektren

Tabelle 2: Kenngrößen der erstellten Vorhersagemodelle für die nicht-destruktive Messung der Qualitätsparameter mit einem Nahinfrarotspektrometer.

Parameter	Wertebereich	Anzahl Äpfel	r^2	RMSEP	RPD	Referenzmethode
Gesamtzucker [° Brix]	9,6 – 15,9	499	0,8	0,6	2,0	Refraktometer
Gesamtsäure [g/l]	1,4 – 7,6	504	0,8	0,5	2,2	Titration
Festigkeit [kg/cm ²]	3,1 – 10,6	506	0,8	0,7	2,1	Texture Analyzer
Stärke [g/100 g]	0,1 – 10,78	159	0,8	1,1	2,4	Enzymatische Methode
Saccharose [g/100 g]	0,3 – 4,6	392	0,8	0,5	2,1	Flüssigchromatographie
Fruktose [g/100 g]	2,9 – 11,4	400	0,3	1,4	1,2	Flüssigchromatographie
Glukose [g/100 g]	0,4 – 2,9	398	0,5	0,4	1,4	Flüssigchromatographie
Sorbitol [g/100 g]	0,05 – 0,6	410	0,4	0,07	1,1	Flüssigchromatographie
Apfelsäure [mg/100 g]	166,4 – 738,2	392	0,6	69,2	1,5	Flüssigchromatographie
Zitronensäure [mg/100 g]	0,6 – 10,2	399	0,5	1,3	1,5	Flüssigchromatographie