

Dissertation

Analytische Methode zur Identifizierung des geographischen Ursprungs von Kürbiskernölen

DI Daniela Zettl

Datum(06/01/2013)



Lehrstuhl für Allgemeine und Analytische Chemie
Montanuniversität Leoben

A-8700 LEOBEN, Franz Josef Straße 18
Tel.Nr.: +43/(0)3842-402-1201
Fax: +43/(0)3842-402-1202
allchem@unileoben.ac.at

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre an Eides statt, dass ich diese Arbeit selbstständig verfasst, andere als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und mich auch sonst keiner unerlaubten Hilfsmittel bedient habe.

Leoben, Jänner 2013

Danksagung

Herrn Ao.Univ.-Prof. Mag.rer.nat. Dr.mont. Thomas Meisel danke ich ganz besonders für die interessante Themenstellung, die Betreuung der Dissertation sowie für die motivierenden Anregungen, die diese Arbeit möglich machten.

Frau Mag. Dr.techn. Donata Bandoniene, danke ich ebenfalls für die fachliche Begleitung und Unterstützung der Dissertation, sowie für die Unterstützung bei der Durchführung der Analytik.

Bei Herrn O.Univ.-Prof. Dipl.-Ing. Dr.techn. Wolfhard Wegscheider möchte ich mich herzlichst für die fachliche Unterstützung bedanken.

Mein großer Dank gilt allen Mitarbeitern des Lehrstuhls für Allgemeine und Analytische Chemie für die Unterstützung meiner Arbeit in den letzten Jahren.

Für die Unterstützung dieser Arbeit möchte ich mich bei Firma F. URL Co. GmbH, besonders bei Herrn Franz Kapaun und Frau Dr. Silvia Pfeiffer-Mayer, bedanken.

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich in den letzten Jahren während meiner Dissertation unterstützt haben und hier nicht namentlich genannt werden.

Inhaltsverzeichnis

1	Kurzfassung	8
2	Abstract	10
3	Verzeichnisse	11
3.1	Abbildungsverzeichnis.....	11
3.2	Tabellenverzeichnis	13
3.3	Abkürzungen.....	14
4	Einleitung.....	16
4.1	Kürbiskernöl –laut Österreichischem Lebensmittel CODEX	23
4.2	Der Ölkürbis und die Entwicklung seines Marktes	25
4.3	Stand der Forschung und Technik	27
4.3.1	Geographische Herkunftsbestimmung von Lebensmittel	27
4.3.2	Stabile Isotope	29
4.3.3	Radiogene Isotope.....	30
4.3.4	Spurenelemente und Seltene Erden	32
4.3.4.1	Geschichte der Seltenen Erdelemente	32
4.3.4.2	Seltene Erden - Pflanzen - Boden.....	33
4.3.5	Möglichkeiten zur Herkunftsbestimmung pflanzlicher Öle	35
4.3.6	Chemometrische Methoden zur geographischen Herkunftsbestimmung..	36
4.3.6.1	Explorative und unüberwachte Techniken - PCA	37

4.3.6.2	Partial least square Regression (PLS)	38
4.3.6.3	Vorhersage mit PLS-Modellen	38
4.4	Messunsicherheit.....	39
5	Problemstellung und Idee.....	41
6	Experimentelles	46
6.1	Probenahme.....	46
6.1.1	Probenahme Boden	47
6.1.2	Probenahme Kürbiskerne	48
6.1.3	Probenahme zur Erstellung einer Datenbank	48
6.2	Ermittlung der SEE-Konzentration in Bodenproben mittels ICP-MS Messung	50
6.2.1	Probenvorbereitung	50
6.2.2	Sinteraufschluss mit Na ₂ O ₂	50
6.2.3	Messung der Bodenproben.....	51
6.3	Methode zur Bestimmung der Konzentrationen von Spurenelementen in Kürbiskernölen mittels ICP-MS	52
6.3.1	Probenvorbereitung	53
6.3.1.1	Ölextraktion aus Kürbiskernen	53
6.3.1.2	Säure Aufschluss der extrahierten Ölproben	55
6.3.2	Messung der Spurenelementkonzentration im Kürbiskernöl mittels ICP- MS.....	56

6.3.2.1	Messprinzip	58
6.3.2.2	Kalibrierung, Probenverdünnung.....	59
7	Validierung der Messung der Spurenelementkonzentration im Kürbiskernöl mittels ICP-MS.....	60
7.1	Messunsicherheit.....	69
7.1.1	Beschreibung des Messverfahrens und der Messgröße zur Bestimmung der Konzentration von SEE in Kürbiskernöl.....	70
7.1.2	Identifizierung und Analyse der Unsicherheitsquellen	71
7.1.3	Quantifizierung der Unsicherheitskomponenten laut dem EURACHEM-Leitfaden	72
7.1.3.1	Beitrag zur Unsicherheit durch die Waage (m_{Probe})	72
7.1.3.2	Wiederholbarkeit (Präzision).....	73
7.1.3.3	Erweiterte Messunsicherheit (U)	75
7.1.4	Quantifizierung der Unsicherheitskomponenten mittels Nordtest-Methode.....	77
7.1.4.1	Untersuchung der systematischen Abweichungen (Bias)	77
7.1.4.2	Berechnung der kombinierten erweiterten Messunsicherheit.....	80
7.1.5	Vergleich der erweiterten Unsicherheiten (U) ermittelt gemäß EURACHEM-Leitfaden und Nordtest-Methode	81
8	Ergebnisse	83
8.1	Ermittlung relevanter Einflussfaktoren zur Herkunftsbestimmung auf Basis von Elementspurenuntersuchungen.....	83

8.1.1 Variationen der SEE-Konzentrationen und der SEE-Verteilung im Boden	84
8.1.2 Witterungseinfluss auf die SEE-Verteilung im Boden	86
8.1.3 Beziehung der Spurenzusammensetzung von Boden und Kürbiskernöl von Kürbissen aller Parzellen	88
8.1.4 SEE-Verteilung in Kürbiskernöl und die jährlichen Witterungseinflüsse ...	90
8.1.5 Beeinflussung der SEE-Verteilung in Kürbiskernöl durch die Verarbeitung.... ..	91
8.1.6 Homogenität und Wiederholbarkeit des SEE-Musters der Kürbiskerne innerhalb eines Feldes	93
8.2 Erweiterung des gemessenen SEE-Musters mit anderen Spurenelementen zur schärfern Differenzierung der geographischen Herkunft.....	97
8.3 Statistische Auswertung/Datenbank.....	98
8.3.1 Hauptkomponentenanalyse (PCA).....	106
8.3.2 PLS-Modell – Vorhersage unbekannter extrahierter Kürbiskernölproben.....	111
9 Anpassung der Methode für kommerzielle Kürbiskernöle – Einsatz in der Praxis	114
9.1 Klassifizierungsmodell gepresstes Kürbiskernöl	114
9.2 Kernölttest 2012 - Verein für Konsumenteninformation (VKI)	118
10 Diskussion und Schlussfolgerungen.....	119
11 Literatur.....	126

1 Kurzfassung

Die geographische Herkunft von Lebensmitteln hat in der heutigen globalisierten Gesellschaft sehr große Bedeutung gewonnen. Aus verschiedensten Gründen greifen immer mehr Konsumenten auf heimische Produkte mit definierter geographischer Herkunft zurück. Aber auch heimische Produzenten werben mit der geographischen Herkunft und versuchen durch dieses Prädikat die Wertschöpfung ihrer Produkte zu steigern. Leider steigt bei diesen Produkten, zu welchen auch das „Steirische Kürbiskernöl g.g.A.“ zählt, der Missbrauch mit falsch deklarierte geographische Herkunft. Der Ruf nach einer analytischen Methode, um dieses sozialgesellschaftliche Problem, wie die Verschleierung des Ursprungs von steirischen Kürbiskernöl, zu lösen, wird immer lauter.

Das in den letzten Jahren entwickelte Verfahren zur Identifizierung der geographischen Herkunft von Kürbiskernöl, hat sich als innovativ erwiesen (Bandoniene et al., 2013; Joebstl et al., 2010; Meisel and Bandoniene, 2007).

Ein wichtiger Faktor bei der Entwicklung des Verfahrens war es, die Messung der Elementspuren insbesondere die SEE, welche in Kürbiskernölen im Ultraspurenbereich liegen, soweit zu automatisieren, dass die Methode auch als Routinemethode Anwendung finden kann.

Durch die systematischen Untersuchungen relevanter Einflussfaktoren zur Herkunftsbestimmung auf Basis Elementspurenuntersuchung über 3 Jahre wurde festgestellt, dass die Methode der Elementspurenuntersuchungen zur Herkunftsbestimmung von Kürbiskernen und Kürbiskernölen geeignet und ausreichend ist.

Die Klassifizierungsmodelle zur Identifizierung der geographischen Herkunft, die in dieser Arbeit erstellt wurden, können sehr gut zur Kontrolle der Kerne bei der Anlieferung in der Ölmühle herangezogen werden, oder zur Kontrolle der Kerne direkt bei den diversen Kürbiskernbauern. Die Daten, zur Erstellung der Modelle, wurden über mehrere Jahre gesammelt und auch mehrerer Einflüsse untersucht, somit ist die Methode mit sehr vielen statistischen Daten abgesichert.

Das entwickelte Klassifizierungsmodelle auf Basis gepresster Kürbiskernöle definierter geographischer Herkunft, konnte erfolgreich in der Praxis bei der Marktstudie 2012,

zur Bestimmung der geographischen Herkunft von kommerziell erhältlichen Kürbiskernölen vom Verein für Konsumentenschutz in Österreich eingesetzt werden.

2 Abstract

In today's globalized society the geographical origin of food has gained importance. For various reasons, more and more consumers prefer local products with a defined geographical origin. Producers also advertise the geographical origin and are trying to increase the value of their products by praising the quality of their products through a geographical designation. Unfortunately, there is an increase of abuse in these products, which also comprise the "Styrian pumpkin seed oil PGI" with falsely declared geographical origin. The demand for an analytical approach how to counteract the falsification of origin of Styrian pumpkin seed oil, has increased dramatically.

The aim of this work was to develop an analytical method to assure the geographical origin of Styrian pumpkin seed oil, a traditional Austrian speciality (Bandoniene et al., 2013; Joebstl et al., 2010; Meisel and Bandoniene, 2007).

An important factor in the development of the method was the automated measurement procedure of trace elements in particular the SEE, which occur in pumpkin seed oils at ultra-trace level content.

Over three years the relevant factors that influence the correct determination of the origin were studied. It was found that the method based on trace element measurement to determine the origin of pumpkin seeds and pumpkin seed oil is suitable and sufficient.

The classification models to identify the geographic origin were established in this study for seeds and oil. They are either used for the control of the seeds delivered to the oil mill, or to classify the seeds directly at the farm. The data, for the models were collected over several years and the efficiency of the method is confirmed by statistical analysis. Classification models based on pressed pumpkin seed oils, was successfully applied during a market study in 2012 organised by the Consumer Advocacy Group in Austria (VKI). The result of this study of the geographical origin of commercially available pumpkinseed oils was in contradiction to the geographic origin proclaimed by the producers.

3 Verzeichnisse

3.1 Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1: ÖSTERREICHISCHES LEBENSMITTELMODELL (QUELLE: HTTP://WWW.LEBENSMINISTERIUM.AT/LEBENSMITTEL/QS-LEBENSMITTEL/LEBENSMITTELPOLITIK- OE/LEBENSMITTELMODELL.HTML, 06.02.2012))	19
ABBILDUNG 2: DIE G.G.A.-ANBAUGEBIETE FÜR STEIRISCHES KÜRBISKERNÖL	22
ABBILDUNG 3: ENTWICKLUNG DER VERÖFFENTLICHTEN LITERATUR ÜBER GESCHÜTZTE URSPRUNGSBEZEICHNUNG BASIEREND AUF DER VERWENDUNG VON A) SPURENELEMENTEN UND B) STABILEN ISOTOPEN. (QUELLE: (GONZALVEZ ET AL., 2009)	28
ABBILDUNG 4: VERFAHREN ZUR BESTIMMUNG DER MESSUNGSICHERHEIT (EURACHEM/CITAC, 2004)	41
ABBILDUNG 5: SEE KONZENTRATIONEN (LINKE ACHSE) UND CHONDRITEN NORMALISIERTE MUSTER (RECHTE ACHSE) DES KÜRBISKERNÖLMIXES (QCM-ÖL) IM VERGLEICH MIT EINEM SEDIMENT REFERENZMATERIAL (SCO-1). UNSIKERHEITEN SIND STANDARDABEICHUNGEN. DIE CHONDRITEN NORMALISIERUNGSWERTE WURDEN VON WASSON AND KALLEMEYN 1988 ÜBERNOMMEN. (BANDONIENE ET AL., 2013).....	44
ABBILDUNG 6: ERMITTLUNG DER KONZENTRATION VON ELEMENTSPUREN IN KÜRBISKERNÖL	52
ABBILDUNG 7: VERGLEICH DER SEE VERTEILUNG IN KÜRBISKERNÖLEN UNTERSCHIEDLICHER HERKUNFT (SZ GLEISDORF UND LVA WIES), EXTRAHIERT MIT ZWEI UNTERSCHIEDLICHEN LÖSUNGSMITTELN (N-HEXAN UND PETROLETHERR). SEE KONZENTRATIONEN SIND NORMALISIERT AUF QCM-ÖL. KONVIDENZINTERVALLE MIT SIGNIFIKANZNIVEAU VON 95% (N=16) (JOEBSTL ET AL., 2007; JOEBSTL ET AL., 2010).	54
ABBILDUNG 8: MAIN EFFEKT PLOT UND PARETO CHART (JOEBSTL ET AL., 2007).....	55
ABBILDUNG 9: REGELKARTE AUS EINZELWERTEN FÜR RMKK FÜR DAS ELEMENT LA.....	65
ABBILDUNG 10: MITTELWERTREGELKARTE FÜR RMÖL FÜR DAS ELEMENT LA	66
ABBILDUNG 11: KONTROLLMUSTER DER SEE FÜR RMKK UND RMÖL	67
ABBILDUNG 12: ANALYSE DER SEE IN KÜRBISKERNÖLEN	70
ABBILDUNG 13: URSACHEN-WIRKUNGSDIAGRAMM	71
ABBILDUNG 14: VERTEILUNG DER SEE IN DEN GEOGRAPHISCH VERSCHIEDENEN VERSUCHSFELDERN (JOEBSTL ET AL., 2008)	86
ABBILDUNG 15: VERTEILUNG DER SEE IM BODEN VON VERSUCHSFELD 2 ÜBER ZWEI JAHRE.....	87
ABBILDUNG 16: VERTEILUNG DER SEE IM BODEN VON VERSUCHSFELD 5 ÜBER ZWEI JAHRE.....	88
ABBILDUNG 17: VERGLEICH DER SEE MUSTER DES BODENS MIT JENEN DES ÖLES GLEICHER HERKUNFT. DIE KONZENTRATIONEN DER SEE ALLER PROBEN SIND AUF KONZENTRATIONEN DER REFERENZBODENPROBE (QCM- SOIL) NORMIERT UND NORMIERTE KONZENTRATIONEN IN ÖLEN SIND 100 000 FACH MULTIPLIZIERT.	89
ABBILDUNG 18: VERGLEICH DER VERTEILUNGEN DER SEE IN EXTRAHIERTEM KÜRBISKERNÖL BESTIMMTER HERKUNFT (ZWEI UNTERSCHIEDLICHE ANBAUGEBIETE IN NIEDERÖSTERREICH (NÖ) MIT DEN POSTLEITZAHLEN 3253 UND 3383) ÜBER DREI JAHRE: 2006 (N=2), 2007 (N=2), UND 2008 (N=2).	91

ABBILDUNG 19: VERGLEICH DER SEE MUSTER IN GEPRESSTEN UND EXTRAHIERTEN ÖLEN DEFINIERTER HERKUNFT (JOEBSTL ET AL., 2008).....	93
ABBILDUNG 20: SEE-MUSTER DER 14 ANALYSIERTEN KÜRBISSE VOR DER ERNTE VON VERSUCHSFELD ST. BARTHOLOMÄ MIT EINER DURCHSCHNITTSPROBE ÖER_7.8.D NACH DER ERNTE DES FELDES.....	94
ABBILDUNG 21: VERTEILUNG DER SEE IN KÜRBISKERNEN VON VERSUCHSFELD 2 (LVA WIES). ES WURDEN CA. 100 M ² ACKER IN 18 RASTER EINGETEILT UND KÜRBISKERNE VON JEDEM RASTER EXTRA ANALYSIERT.....	95
ABBILDUNG 22: VARIABILITÄT DER SEE VERTEILUNG IN EXTRAHIERTEN KÜRBISKERNÖLEN DER UNTERSCHIEDLICHEN REGIONEN IN ÖSTERREICH (NIEDERÖSTERREICH, NÖ, UND STEIERMARK, STMK), RUSSLAND (RUS) UND CHINA. ACHTUNG! DURCH DIE HOHEN KONZENTRATIONEN IN DEN CHINESISCHEN PROBEN WURDE EINE ANDERE SKALIERUNG VERWENDET.	97
ABBILDUNG 23: SCORE-PLOT PCA ÖSTERREICH (GRÜNE VIERECK) , CHINA (ROTE PUNKTE) , RUSSLAND (ROTE KREUZE) MIT PC-1 UND PC-2	106
ABBILDUNG 24: KORRELATIONS-LOADING-PLOT FÜR DIE PCA ÖSTERREICH, CHINA, RUSSLAND FÜR PC-1 UND PC-2 ..	107
ABBILDUNG 25: SCORE-PLOT PCA ÖSTERREICH (GRÜNE VIERECK) , CHINA (ROTE PUNKTE) , RUSSLAND (ROTE KREUZE) MIT PC-1 UND PC-3	108
ABBILDUNG 26: KORRELATIONS-LOADING-PLOT FÜR DIE PCA ÖSTERREICH, CHINA, RUSSLAND FÜR PC-1 UND PC-3 ..	109
ABBILDUNG 27: PLS-MODELL ÖSTERREICH/ANDERE, ÖSTERREICH (GRÜNE VIERECK) , CHINA (ROTE PUNKTE) , RUSSLAND (ROTE KREUZE).....	111
ABBILDUNG 28: KORRELATIONS-LOADING-PLOT DES PLS-MODELLES ÖSTERREICH/ANDERE	112
ABBILDUNG 29: VORHERSAGE UNBEKANNTER EXTRAHIERTER KÜRBISKERNÖLE, GRUNDLAGE PLS-MODELL ÖSTERREICH/ANDERE	113
ABBILDUNG 30: PLS-MODELL ÖSTERREICH/AUSLAND, ÖSTERREICH (GRÜNE VIERECK) , CHINA (ROTE PUNKTE) , RUSSLAND (ROTE STERNE).....	115
ABBILDUNG 31: KORRELATIONS-LOADING-PLOT DES PLS-MODELLES ÖSTERREICH/AUSLAND	116
ABBILDUNG 32: VORHERSAGE DER 15 UNBEKANNTEN GEPRESSTEN KERNÖLE SICHERER HERKUNFT VON AGES MIT DEM MODELL ÖSTERREICH/AUSLAND.	116

3.2 Tabellenverzeichnis

TABELLE 1: 14 ÖSTERREICHISCHE PRODUKTE MIT EU-HERKUNFTSSCHUTZ	18
TABELLE 2: ANZAHL DER KÜRBISKERNPROBEN VON 3 JAHREN	49
TABELLE 3: ISOTOPE DIE MIT DEM ICP-MS DETEKTIERT WERDEN.	59
TABELLE 4: MITTELWERT DER SEE KONZENTRATIONEN IN $\mu\text{G}/\text{G}$ SOWIE DIE STANDARDABWEICHUNG (SD) VON GBW 07403, QCM-SOIL UND QCM-OIL (IN SUPPLEMENTARY DATA (BANDONIENE ET AL., 2013)).	63
TABELLE 5: ZUSAMMENFASSUNG DER KONZENTRATIONEN DER GEMESSENEN ELEMENTE VON EXTRAHIERTEM KÜRBISKERNÖL, APPLE LEAVES SOWIE LOD UND LOQ (BANDONIENE ET AL. 2013)	68
TABELLE 6: DURCHSCHNITTLICHE KONZENTRATION VON SEE UND STANDARDABWEICHUNG VON RMKK S_{RW} (N=23), LOD (LIMIT OF DETECTION) UND LOQ (LIMIT OF QUANTIFICATION), BEITRAG ZUR UNSICHERHEIT VON DER METHODENPRÄZISION $U(R_w)$	75
TABELLE 7: BEITRAG ZUR UNSICHERHEIT VON DER METHODENPRÄZISION $U(R_w)$ UND RELATIVE ERWEITERTE MESSUNSICHERHEIT U	76
TABELLE 8: STANDARD REFERENZMATERIAL APPLE LEAVES NIST SRM 1515 (N=11)	78
TABELLE 9: STANDARD REFERENZMATERIAL APPLE LEAVES NIST SRM 1515 (N=11)	80
TABELLE 10: BEITRAG ZUR UNSICHERHEIT BIAS NACH GLEICHUNG 7 $U(\text{BIAS})$, RELATIVER BEITRAG ZUR UNSICHERHEIT VON DER METHODENPRÄZISION $U(R_w)$, RELATIVE KOMBINIERTER MESSUNSICHERHEIT U_c UND DIE RELATIVE ERWEITERTE MESSUNSICHERHEIT U	81
TABELLE 11: DIE ERWEITERTE UNSICHERHEIT (U) IN % DER SEE GEHALTE IN KÜRBISKERNÖLEN. U^* BESTIMMT NACH DEM EURACHEM-LEITFADEN UND U^{**} BESTIMMT NACH DER NORDTEST-METHODE	82
TABELLE 12: ZUSAMMENFASSUNG DER TYPE III SUM OF SQUARES ANALYSE FÜR ALLE ELEMENTE	85
TABELLE 13: ERGEBNIS ANOVA VERSUCHSFELD 2.....	87
TABELLE 14: ANOVA MIT EXCEL ZWEIFAKTORIAL OHNE MESSWIEDERHOLUNG.....	96
TABELLE 15: FISHER-VERHÄLTNIS FÜR DEN BINÄREN LÄNDERVERGLEICH ÖSTERREICH/CHINA (AUT/CHN).....	99
TABELLE 16: FISHER-VERHÄLTNIS FÜR DEN BINÄREN LÄNDERVERGLEICH ÖSTERREICH/RUSSLAND (AUT/RUS)	100
TABELLE 17: FISHER-VERHÄLTNIS FÜR DEN BINÄREN LÄNDERVERGLEICH ÖSTERREICH/ANDERE (AUT/ANDERE).....	100
TABELLE 18: FISHER-VERHÄLTNIS FÜR DEN BINÄREN LÄNDERVERGLEICH CHINA/ANDERE (CHN/ANDERE)	101
TABELLE 19: FISHER-VERHÄLTNIS FÜR DEN BINÄREN LÄNDERVERGLEICH CHINA/RUSSLAND (CHN/RUS).....	101
TABELLE 20: FISHER-VERHÄLTNIS FÜR DEN BINÄREN LÄNDERVERGLEICH RUSSLAND/ANDERE (RUS/ANDERE).....	102
TABELLE 21: ERGEBNIS ANOVA, EFFEKT FELDER DER BAUERN UND JAHRE	104
TABELLE 22: VARIABLEN MIT GUTEM DISKRIMINIERUNGSPOTENZIAL BEI BINÄREN LÄNDERVERGLEICHEN.....	105
TABELLE 23: KORRELATION, ERKLÄRTE VARIANZEN	110
TABELLE 24: VORHERSAGE DER HERKUNFT DER ÖLE VON AGES MIT DEM MODELL ÖSTERREICH (AUT)-AUSLAND.....	117
TABELLE 25: VORHERSAGE DER GEOGRAPHISCHEN HERKUNFT DER 30 KÜRBISKERNÖLE DER VKI MARKTSTUDIE.....	118

3.3 Abkürzungen

AGES	Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit
ANOVA	Varianzanalyse
APEX	Zerstäuberkammer mit Verdampfungs- und Kondensationseinheit der Fa. ESI
AUT	Österreich
BRIDGE	Brückenschlagprogramm
CA	Clusteranalyse
CE	Kapillarelektrophorese
CHN	China
CIPM	Comité International des Poids et Mesures
EDA	explorative Datenanalyse
EU	Europäische Gemeinschaft
FFG	österreichische Forschungsförderungsgesellschaft
FIP	Förderungsgemeinschaft für integrierte Produktion
FV	Fisher Verhältnis
g.g.A.	geschützte geographische Angabe
g.t.S.	traditionelle Spezialität
g.U.	geschützte Ursprungsbezeichnung
GC	Gaschromatographie
GC-MS	Gaschromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung
GFAAS	Graphitrohr Atomabsorptionsspektrometrie
GUM	Leitfaden zur Angabe der Unsicherheit von Messungen (Guide to the expression of uncertainty)
HPA-S	Hochdruckverascher (Anton Paar, Graz)
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
ICP-AES	induktiv gekoppeltes Plasma mit Atomemissions-spektrometrie

ICP-MS	Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma
IR	Infrarotspektroskopie
IRMS	Massenspektrometrie
LOD	Nachweisgrenze (Limit of Detection)
LOQ	Bestimmungsgrenze (Limit of Quantification)
LSEE	leichte Seltene Erden, Elemente von La – Eu
LVA Wies	Landwirtschaftliche Versuchsanstalt für Spezialkulturen Wies
MAX	Maximum
MIN	Minimum
MRT	Magnetresonanztomographie
NMR	Kernspinresonanzspektroskopie
OKG	Obere Kontrollgrenze
PCA	Hauptkomponentenanalyse
PLS	Partial Least Square Regression
PTR-MS	Protonen-Transfer-Reaktions-Massenspektrometrie
QCM-Oil	Quality Control Material Öl
QCM-Soil	Quality Control Material Boden
RMKK	In house Referenzkürbiskerne
RMÖL	In house Referenzkürbiskernöl
RMSEC	Kalibrierfehler
RMSEP	Validierfehler
RUS	Russland
SD	Standardabweichung
SEE	Seltene Erdelemente
SSEE	schwere Seltene Erden, Elemente von Gd – Lu
SZ Gleisdorf	Saatzucht Gleisdorf
TPB-Oil	Verfahrensblanks
U	erweiterte Messunsicherheit
UKG	Untere Kontrollgrenze
VKI	Verein für Konsumenteninformation

4 Einleitung

Aufgrund der fortschreitenden Globalisierung und des freien Warenhandels erlangt die geographische Herkunft von Lebensmitteln immer größere Bedeutung. Durch die unterschiedlichen Standards in der Lebensmittelproduktion und den gesetzlichen Vorschriften in den unterschiedlichen Ländern, wird die Herkunft der Lebensmittel für den Konsumenten immer wichtiger. Auch als Angst vor gesundheitlichen Schäden durch minderwertige Produkte, die durch falsche Deklaration als Qualitätsprodukte aus bestimmten Regionen ausgewiesen sind, steigt auf Seiten der Konsumenten immer mehr das Interesse nach einer sicheren Kontrolle der geographischen Herkunft.

Eine Evaluierung aus der Schweiz zeigt auf, dass die Herkunft von Lebensmittel für die Kaufentscheidung bei 82% der Konsumenten wichtig ist (Franke et al., 2005). Laut Luykx und van Ruth (2008) gibt es verschiedene Ursachen für dieses gestiegene Interesse der Konsumenten. Spezielle Kultivierung und organoleptische Qualität werden mit regionalen Produkten assoziiert; Gesundheit, Patriotismus, Medienaufmerksamkeit, minderes Vertrauen in die Qualität und Sicherheit von den Produkten, die außerhalb der Region, des Landes oder der EU produziert werden, mehr Tierschutz und Umweltschutz bei kleiner strukturierten, regionalen Produzenten.

Die Europäische Union hat schon 1992 erste Schritte gesetzt und Systeme zum Schutz und zur Aufwertung von besonderen Agrarerzeugnissen und Lebensmitteln geschaffen, um den Konsumenten nicht in die Irre zu führen und auch den Hersteller vor unlauterem Wettbewerb zu schützen (EWG, 1992). Solche Systeme sind die geschützte Ursprungsbezeichnung (g.U.), die garantierte traditionelle Spezialität (g.t.S.) und die geschützte geographische Angabe (g.g.A.). Über die DOOR Datenbank (<http://ec.europa.eu/agriculture/quality/door/list.html;jsessionid=4RpvQgcJSmGvyw6Cyrb2DXp0FCsIT9jZLd31PGxNJV8MV1Pnc2nh!-1599193491>, 12.11.2012) der Europäischen Kommission ist es möglich herauszufinden, über welche Produkte ein Eintrag vorliegt oder beantragt wurde. Ende 2009 waren mehr als 870 Produkte gelistet. In Österreich

sind derzeit 14 Produkte mit einem g.g.A. oder g.U. Gütezeichen ausgezeichnet (siehe Tabelle 1).

Die Gütezeichen g.g.A. und g.U. haben einen starken geographischen Bezug, während g.t.S. ein Bürge für eine traditionelle Zusammensetzung, eine traditionelle Herstellungs- bzw. Verarbeitungsmethode oder für traditionelle Rohstoffe ist.



g.U. (geschützte Ursprungsbezeichnung) Erzeugung, Verarbeitung und Herstellung des Erzeugnisses müssen in einem bestimmten geographischen Gebiet, nach einem anerkannten und festgelegten Verfahren erfolgen.



g.g.A. (geschützte geographische Angabe) es besteht eine enge Verbindung der landwirtschaftlichen Erzeugnisse und Lebensmittel mit dem Herkunftsgebiet. Mindestens eine der Produktionsstufen - also Erzeugung, Verarbeitung oder Herstellung - wird im Herkunftsgebiet durchlaufen.



g.t.S. (garantiert traditionelle Spezialität) das Erzeugnis muss eine traditionelle Zusammensetzung aufweisen, oder nach einem traditionellen Verfahren hergestellt sein.

Tabelle 1: 14 österreichische Produkte mit EU-Herkunftsschutz

Produkt	Schutzlabel	
Wachauer Marille	g.U.	VO 1107/96 (ABI L 148/96)
Tiroler Graukäse	g.U.	VO 1263/96 (ABI L 163/96)
Steirisches Kürbiskernöl	g.g.A.	VO 1263/96 (ABI L 163/96)
Marchfeldspargel	g.g.A.	VO 1263/96 (ABI L 163/96)
Gailtaler Almkäse	g.U.	VO 1263/96 (ABI L 163/96)
Tiroler Speck	g.g.A.	VO 1065/97 (ABI L 156/97)
Tiroler Bergkäse	g.U.	VO 1065/97 (ABI L 156/97)
Vorarlberger Alpkäse	g.U.	VO 1065/97 (ABI L 156/97)
Vorarlberger Bergkäse	g.U.	VO 1065/97 (ABI L 156/97)
Waldviertler Graumohn	g.U.	VO 1065/97 (ABI L 156/97)
Tiroler Almkäse/Tiroler Alpkäse	g.U.	VO 2325/97 (ABI L 322/97)
Gailtaler Speck	g.g.A.	VO 1241/2002 (ABI L 181/2002)
Steirischer Kren	g.g.A.	VO 1229/2008 (ABI L 333/2008)
Mostviertler Birnmost	g.g.A.	VO 237/2011 (ABI L 66/2011)

Auch im österreichischen Lebensmittelmodell, welches auf den Grundprinzipien der Nachhaltigkeit, Lebensmittelsicherheit, Lebensmittelqualität, Regionalität und Lebensmittelvielfalt aufbaut, steht die geschützte Herkunftsangabe auf der dritten Qualitätsstufe, diese umfasst die gesetzlich anerkannten Qualitätsregelungen.

(<http://www.lebensministerium.at/lebensmittel/qs-lebensmittel/lebensmittelpolitik-oe/lebensmittelmodell.html>, 06.02.2012)



Abbildung 1: Österreichisches Lebensmittelmodell; Quelle:

<http://www.lebensministerium.at/lebensmittel/qs-lebensmittel/lebensmittelpolitik-oe/lebensmittelmodell.html>, 06.02.2012

Die Regionalität steht im engen Zusammenhang mit der Herkunft der Lebensmittel und hat für die Verbraucher besondere Bedeutung erlangt. Der Grundpfeiler Regionalität ist ein Bekenntnis zum ländlichen Raum, seiner Wertschöpfung und zur Bedeutung der regionalen Identität. Er ist Basis für regionale, klimafreundliche Produktion von Lebensmitteln und die Kennzeichnung der Herkunft der Lebensmittel. Entscheidend für die Regionalität von Lebensmitteln ist dabei einerseits die räumliche Herkunft und die Prozess- und Produktqualität, sowie andererseits die Beziehung und das Vertrauen zwischen den Erzeugern und Verbrauchern, sowie die Transparenz und Nachvollziehbarkeit der Produktion (<http://www.lebensministerium.at/lebensmittel/qs-lebensmittel/lebensmittelpolitik-oe/lebensmittelmodell.html>, 06.02.2012).

Für die Steiermark ist das Kürbiskernöl eines der wichtigsten regionalen Produkte geworden. Deshalb hat die EU-Kommission bereits 1996 für das Steirische Kürbiskernöl gemäß Artikel 5 VO (EWG) Nr. 2081/92 die geschützte Regionalmarke „Steirisches Kürbiskernöl g.g.A.“ genehmigt. Um eine solche Unterschutzstellung eines Produktes zu

erlangen, muss es eine Herstellervereinigung geben, die einen Eintragungsantrag mit Produktspezifikation beim österreichischen Patentamt einbringt. Im Falle von Kürbiskernöl war dies „Die Gemeinschaft der Arbeitsgemeinschaft steir. Kürbiskernbauern Gen. m.b.H.“ mit der Berufsgruppe Ölpresser-Landesinnung der Müller Steiermark. In der Spezifikation sind das Erzeugnis und Gebiet definiert, die Elemente dargelegt, die die Zuerkennung einer Ursprungsbezeichnung oder geografischen Angabe rechtfertigen, und die Angaben zur Kontrolle der Einhaltung der Spezifikation (Kontrollstelle) enthalten. Das Patentamt überprüft die Schutzwürdigkeit der Bezeichnung und bei einer positiven Entscheidung wird das Prüfungsergebnis an die Europäische Kommission weitergeleitet. Die positive Entscheidung des Patentamts sowie die Spezifikation werden veröffentlicht. Teilt die Europäische Kommission die Auffassung der nationalen Behörde, dann wird der Name in eine Verordnung der Europäischen Kommission aufgenommen und im Amtsblatt der Europäischen Union, Reihe L, veröffentlicht. Bevor die Europäische Kommission ihre endgültige Entscheidung trifft, wird der Name im Amtsblatt der Europäischen Union, Reihe C, veröffentlicht. Mit dieser Veröffentlichung beginnt das Einspruchsverfahren. Innerhalb von 6 Monaten kann jede natürliche oder juristische Person mit einem berechtigten Interesse, Einspruch gegen die beabsichtigte Eintragung einlegen, sofern einer der in der VO 510/2006 (Art. 7 Abs. 3) genannten Gründe vorliegt (<http://www.lebensministerium.at/lebensmittel/qs-lebensmittel/lebensmittelqualitaet/herkunft-spezialitaetenschutz/Herkunftsschutz.html>, 06.02.2012).

Der Antrag (Antrag, Steirisches Kürbiskernöl – g. g. A., HA 1/2006 (urspr. Zl. 1215-GR/95), www.patentamt.at/Media/SteirischesKuerbiskernoel.pdf, 06.02.2012) wurde damals damit begründet, dass der Anbau eine wichtige wirtschaftliche Rolle bei der Erhaltung der kleinstrukturierten landwirtschaftlichen Betriebe darstellt und dass durch die Erzeugung des steirischen Kürbiskernöls wichtige Arbeitsplätze und das Einkommen von rund 70 gewerblichen Ölpressern gesichert ist. (Susanne Bauer; Kürbiskernöl - Preise und Lebensmitteltest, Juni 2011; <http://m.stmk.arbeiterkammer.at/online/stolze-preise-fuer-gruenes-gold-61883.html>, 06.02.2012)

Anders als bei anderen g.g.A. Produkten gibt es bei steirischem Kürbiskernöl g.g.A. einen Anbau- und Verarbeitungsgebietsschutz. Typische Beispiele wären der Schwarzwälder Schinken, Schweine zur Produktion dieser Spezialität, können von überall herkommen, der Schinken muss aber in einem Betrieb im Schwarzwald geräuchert werden.

"Thüringer Rostbratwurst" als auch die "Nürnberger Rostbratwurst", sind als geografisch geschützte Angaben anerkannt. Für die „Thüringer“ ist festgelegt, dass mindestens 51 Prozent der Rohstoffe aus Thüringen stammen müssen. Bei der „Nürnberger“ dagegen, muss nur die Herstellung im Stadtgebiet von Nürnberg erfolgen, wobei die Herkunft der Zutaten nicht vorgeschrieben ist.

(http://www.foodwatch.de/kampagnen_themen/herkunftskennzeichnung/index_ger.html, 06.02.2012)

Gemäß der Verordnung (EG) Nr. 510/2006, darf die mit Verordnung (EG) Nr. 1263/96 eingetragene Bezeichnung "Steirisches Kürbiskernöl" nur verwendet werden, wenn die zugrunde liegenden Produktspezifikationen eingehalten werden.

Das Steirische Kürbiskernöl g.g.A muss zu 100 % aus Kürbiskernen, der Kürbispflanzengattung *Cucurbita pepo* var. *Styriaca* bestehen, welche in den g.g.A.-Gebieten kultiviert, geerntet und in heimischen Ölmöhlen der g.g.A.-Gebiete verarbeitet werden.

Zu den g.g.A. Gebieten (Abbildung 2) zählen in der Steiermark: Deutschlandsberg, Feldbach, Fürstenfeld, Graz u. -Umgebung, Hartberg, Leibnitz, Radkersburg, Voitsberg und Weiz; in Niederösterreich: Hollabrunn, Horn, Mistelbach, Melk, Gänserndorf eingeschränkt auf Gerichtsbezirk Zistersdorf und Korneuburg-Stockerau eingeschränkt auf Gerichtsbezirk Stockerau; und im Burgenland: Jennersdorf, Güssing, Oberwart.

Die Pressung der Kürbiskerne muss nach folgendem Verfahren stattfinden: Die gewaschenen und getrockneten Kerne werden gemahlen, schonend aufgeschlossen (langsam erwärmen) und schließlich gepresst (traditionelles Herstellungsverfahren – keine Raffination) (<http://www.steirisches-kuerbiskernoel->

[gga.at/index.php?option=com_content&view=article&id=96&Itemid=41&lang=en;](http://gga.at/index.php?option=com_content&view=article&id=96&Itemid=41&lang=en)
17.05.2011).

Verfälschung des Steirischen Kürbiskernöls kann durch Vermischung mit minderwertigen bzw. billigeren Ölen oder durch Pressung von Kernen aus nicht g.g.A. Gebieten (Abbildung 2) und ausländischen Kernen, entstehen.



Abbildung 2: Die g.g.A.-Anbaugebiete für Steirisches Kürbiskernöl

§ 45 Lebensmittelsicherheits- und Verbraucherschutzgesetz - LMSVG, BGBl. I Nr. 13/2006, i.d.F. BGBl. I Nr. 136/2006, sieht die Kontrolle der Einhaltung der Spezifikation durch private akkreditierte und vom Landeshauptmann zugelassene Kontrollstellen vor. Da die Art und Weise der Kontrolle der Spezifikation, Bestandteil der Produktspezifikation ist, muss die antragstellende Vereinigung schon vor Antragstellung ein Kontrollsystem ausarbeiten und die Kontrollstelle in der Spezifikation angeben.

(<http://www.lebensministerium.at/lebensmittel/qs-lebensmittel/lebensmittelqualitaet/herkunft-spezialitaetenschutz/Herkunftsschutz.html>;
06.02.2012)

Dieses Kontrollsystem basiert zurzeit nur über Vergleiche der Aufzeichnungen, ob die Erntemengen mit den g.g.A. Anbauflächen korrelieren. Die Bauern müssen eine Anbaumeldung machen, welche von der Agrarmarkt Austria überprüft wird, sowie auch

eine Erntemeldung. Die Erntemengen werden überprüft und die g.g.A.-Gutscheine werden von der Abwicklungsstelle ausgegeben. Es können keine größeren Kernmengen pro Flächen erzeugt werden, als bei einer durchschnittlichen Ernte zu erwarten wäre. Beim Pressen bekommt jeder bäuerliche Betrieb eine individuelle Kontrollnummer, die Erntegutscheine müssen eingelöst werden und die Ölmühlen führen ein Pressbuch zur Überprüfung. (<http://www.labuggers-kernoel.at/wissenswertes/kuerbiskernoel/qualitaetssicherung/index.htm>; 06.02.2011)

Die Kontrolle dieses Systems erfolgt über zwei private Kontrollstelle, LACON GmbH aus Rohrbach und SGS Austria Control-Co. GesmbH aus Wien.

Anekdotische Evidenz unterstützt die Behauptung, dass ein Großteil der Rohware, für die im Lebensmittelhandel vermarkteten Öle, aus dem Ausland, wie Ungarn, Rumänien, Russland, Slowenien, Kroatien, Serbien und zum überwiegenden Teil von den riesigen Anbauflächen in China stammt. Es ist besonders wichtig, die heimischen Kürbiskerne und Kürbiskernöle von der Ware aus diesen großen ausländischen Regionen zu unterscheiden, um die damit verbundene mögliche Verfälschung zu unterbinden. Vor Herkunftsfälschungen müssen ehrliche Produzenten, wie auch Konsumenten geschützt werden. Eine Rückverfolgbarkeit der Rohstoffe ist deshalb von größter Wichtigkeit und wurde auch schon von der EU in der Verordnung (EG) Nr. 178/2002 geregelt. Jedoch besteht das System der Rückverfolgbarkeit zurzeit nur über eine Dokumentation, es gibt aber keine anerkannten analytischen Methoden, die den geographischen Ursprung von Lebensmitteln belegen. Aufgrund dieser Tatsachen ist es wichtig, eine analytische Methode zur Rückverfolgung des geographischen Ursprungs von Kürbiskernen bzw. Kürbiskernölen zu erarbeiten.

4.1 Kürbiskernöl –laut Österreichischem Lebensmittel CODEX

Der Österreichische Lebensmittel CODEX gilt heute rechtlich als "objektivierte Sachverständigengutachten" und dokumentiert nach wie vor die „allgemeine Verkehrsauffas-

sung" zu Lebensmitteln. Das Kürbiskernöl ist im Kapitel B 30 des österreichischen Lebensmittel CODEX unter Punkt 1.3.5 geregelt und wie folgt beschrieben:

„Die Kürbiskerne, die Samen des gewöhnlichen Feldkürbis *Curcubita pepo* L. liefern, wenn sie geschält und gepresst werden, ein gelbes Öl. Werden diese Kerne jedoch warm gepresst, ergibt sich ein dunkel gefärbtes, dichroitisches Öl, das im durchfallenden Licht rotbraun erscheint. Das in Österreich, vor allem in der Steiermark, hergestellte Kürbiskernöl wird überwiegend aus den schalenlos wachsenden Kernen des steirischen Ölkürbises (*Curcubita pepo styriaca*) gewonnen. Diese werden vor dem Pressen stets einem Röstvorgang unterzogen. Die Zugabe von Wasser und Salz als Presshilfe ist statthaft. Je nach der Intensität des Röstvorganges kann es zu einem mehr oder weniger ausgeprägten Röstgeschmack kommen. Zur typischen Erzeugung ist ein langsames Erwärmen mittels Rührwerk vor dem Pressen üblich, wodurch der Wassergehalt deutlich abgesenkt wird und der spezifische Geschmack entsteht. In Verbindung mit „Kern-“ oder „Kürbiskern-“ in der Sachbezeichnung, z.B. „Kernöl“, „Kürbiskernöl“, „Bauernkernöl“, „Steirisches Kernöl“, mit einem Hinweis „echt“ oder „100%ig“ oder mit Kürbisabbildungen in Verkehr gebrachte Erzeugnisse sind immer reines, durch erste Pressung hergestelltes Kürbiskernöl. Ein aus Kürbiskernöl durch Verschnitt mit anderem Speiseöl hergestelltes Öl wird als „Salatöl“ („Speiseöl“, „Tafelöl“) bezeichnet. Der Prozentanteil an Kürbiskernöl wird deklariert. Bei solchen, durch Verschnitt von Kürbiskernöl mit anderen Speiseölen, hergestellten Ölen, die sich in der dunklen Farbe von reinem Kürbiskernöl nicht unterscheiden, darf durch die Bezeichnung, z.B. „steirisches Salatöl“ oder Abbildungen nicht der Eindruck erweckt werden, dass es sich um reines Kürbiskernöl handelt. Die Bezeichnung „frisch gepresst“ wird nicht verwendet.“ (Österreichische Lebensmittel CODEX, Kapitel B30;

http://portal.wko.at/wk/format_detail.wk?angid=1&stid=327683&dstid=144&opennavid=46329; 06.02.2012)

4.2 Der Ölkürbis und die Entwicklung seines Marktes

Der Kürbis ist die älteste Kulturpflanze der Welt. Die Heimat des Ölkürbis ist Nord-Mexiko (Schuster, 1977). Der Ölkürbis, *Cucurbita pepo* L. (Anmerkung: L. bezieht sich auf Carl von Linné, der Name des Autors (Autorenkürzel), der die Erstbeschreibung veröffentlicht hat) , gehört zur Familie der Cucurbitaceae, den Kürbisgewächsen und zählt zu den Beerenfrüchten. Das echte steirische Kürbiskernöl entstammt den schalenlosen Kernen des Ölkürbis. Dieser langtriebige steirische Ölkürbis, *Cucurbita pepo* L. subsp. *pepo* var. *styriaca* GREB., ist zwischen 1870 und 1880 aufgetreten und wurde vom renommierten Botanisten Igor Sergeevic Grebenscikov 1950 benannt (Teppner, 1999). Die Schalenlosigkeit, eine Reduktion der Samenschale auf ein sehr dünnes Häutchen, ist eine genetisch rezessive Mutation, deren Ursprung unbekannt ist. Sie hat den Vorteil, dass der Ölgehalt im Samen gestiegen und leichter auszupressen ist. Der Kürbis ist relativ wärmebedürftig und bevorzugt ein südlich kontinentales Klimagebiet mit mittelschweren, tiefgründigen und humusreichen Böden mit guter Wasserführung. Bei der Saat empfiehlt sich ein enger Reihenabstand (1,6 m), da es sonst zu ungleichmäßiger Abreife kommt. Im Oktober, wenn sich die Früchte gelb-orange verfärben, die Ranken und Blätter abgestorben und die Fruchtsiele eingetrocknet sind, erfolgt die Ernte des Ölkürbis.

Für die Produktion von einem Liter Kürbiskernöl benötigt man ca. 2,5 bis 3 kg Kürbiskerne, dies entspricht ungefähr einer Menge von ca. 30 bis 40 Kürbissen.

(http://www.steirisches-kuerbiskernoel-gga.at/index.php?option=com_content&view=article&id=43&Itemid=44&lang=de, 06.09.2012)

Um 1970 gab es nur rund 200 ha Kürbisanbaufläche in der Steiermark, um 1980 schon 5.000 ha (Schwarz, 2008). 2010 betragen die Anbauflächen in der Steiermark laut Statistik Austria 15.458 ha und in Rest Österreich 11.082 ha (Statistik Austria, 2009, 2010). Im Vergleich dazu hat China eine Kürbisanbaufläche von 500 000 ha. Die Anbaufläche in Österreich hat sich von 2009 auf 2010 um 32 % gesteigert und die Ernte (getrockne-

te Kerne) hat sich von 2009 auf 2010 mit 15 049 verdoppelt (Statistik Austria, 2009, 2010).

Es gibt keine statistischen Daten über die jährlich produzierten Kürbiskernölmengen in Österreich, da die Ölmüller ihre Produktionsmengen nicht bekanntgeben. Der Geschäftsführer des Erzeugerrings Steirisches Kürbiskernöl g.g.A. Glawogger schätzt, dass über vier Millionen Liter Kürbiskernöl im Jahr hergestellt werden und davon ungefähr eine Million Liter kontrolliert herkunftsgeschützt sind. Diese Einschätzung kann aufgrund der Anzahl der ausgegeben Banderolen des Erzeugerrings Steirisches Kürbiskernöl g.g.A. gegeben werden (Schwarz, 2008).

Der Kernölverbrauch steigt seit 2007 jährlich um 20 % an, in Österreich werden rund 6,4 Millionen Liter Kürbiskernöl verbraucht. Ein großes Potenzial stellt auch der Markt in Deutschland dar. Dazu wäre aber eine zusätzliche g.g.A. Fläche von 37.500 ha nötig (Kürbiskernölforum, 2010). Es gab auch schon einen Antrag der FIP (Förderungsgemeinschaft für integrierte Produktion, ist ein Verein der seinen Mitgliedern die Voraussetzung für die Produktion von steirischem Kürbiskernöl g.g.A. lt. EU Verordnung 510/2006 bietet.) auf eine g.g.A. Flächenausdehnung in Niederösterreich. Diesem wurde aber vom österreichischen Patentamt nicht stattgegeben. Kürbiskerne die außerhalb der g.g.A. Gebiete angebaut werden, können jetzt aber auch über das neue Zeichen für Qualitätsprodukte aus Österreich „Austria Garantie“ vermarktet werden. Nicht nur der österreichische Kürbiskernmarkt entwickelt sich weiter, sondern auch der chinesische, denn die Preise für chinesische Kerne sind gestiegen, liegen im Vergleich aber noch unter dem Niveau der europäischen Kerne. Chinesische Bauern sehen darin aber eine Chance, ihr Einkommen zu steigern, sodass in China weiter mit einer Flächenausdehnung und einer gesteigerten Exportmenge zu rechnen ist (Kapaun et al., 2010).

4.3 Stand der Forschung und Technik

4.3.1 Geographische Herkunftsbestimmung von Lebensmittel

Die vergangenen Jahre haben gezeigt, dass die Frage nach der geographischen Herkunft der Lebensmittel nicht durch einfache Untersuchungsmethoden gelöst werden kann, sondern dass eine Vielfalt von analytischen Methoden z.B. Isotopenverhältnis-Massenspektrometrie (IRMS), Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS), Protonen-Transfer-Reaktions-Massenspektrometrie (PTR-MS), Gaschromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung (GC-MS), Kernspinresonanzspektroskopie (NMR), Infrarotspektroskopie (IR), Fluoreszenzspektroskopie, Atomspektroskopie, Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC), Gaschromatographie (GC), Kapillarelektrophorese (CE), Sensortechnologie, DNA-Technologie und Sensoranalyse, zum Einsatz kommt. (Angerosa et al., 1999; Benincasa et al., 2007; Bréas et al., 1998; Camin et al., 2010b; Luykx and van Ruth, 2008).

Es wurden auch viele verschiedene Verbindungen und chemische Parameter (z.B. Fettsäuren, Sterole, Tocopherole, flüchtige Verbindungen, ect.) zur Unterscheidung der Lebensmittel nach ihrer geographischen Herkunft herangezogen (Benabid et al., 2008; D'Imperio et al., 2007; Drava et al., 1994; Galtier et al., 2007; Giansante et al., 2003; Lopez-Feria et al., 2008; Marini et al., 2004; Marini et al., 2003; Matos et al., 2007). Der größte Nachteil dieser Verfahren ist, dass man eine große Zahl an verschiedenen Komponentenklassen bestimmen muss, dass diese apparativ sehr aufwendig, sowie sehr zeit- und kostenintensiv sind.

Neben den oben genannten Parametern, haben auch Spurenelemente (Benincasa et al., 2007; Benincasa et al., 2008; Danzer et al., 1999; Galgano et al., 2008; González et al., 2009; Jakubowski et al., 1999; Koreňovská and Suhaj, 2007; Thiel et al., 2004), stabile und radiogene Isotopen Verhältnisse oder Kombinationen dieser gezeigt, dass sie sich als Fingerabdruck für Lebensmittel eignen (Heier, 2006; Kawasaki et al., 2002; Swoboda et al., 2008) und zur Bestimmung der Herkunft mittels Chemometrie herangezogen werden können. In der Abbildung 4 ist ersichtlich, dass die Anwendung der Spu-

renelementzusammensetzung zur Charakterisierung der Herkunft von Lebensmitteln gestiegen ist. Seit 2000 gibt es ca. 5,2 Publikationen pro Jahr zum Thema Spurenelemente, wogegen das Stabile Isotopen Verhältnis in einem Steadystate gelangt ist. (Gonzalvez et al., 2009)

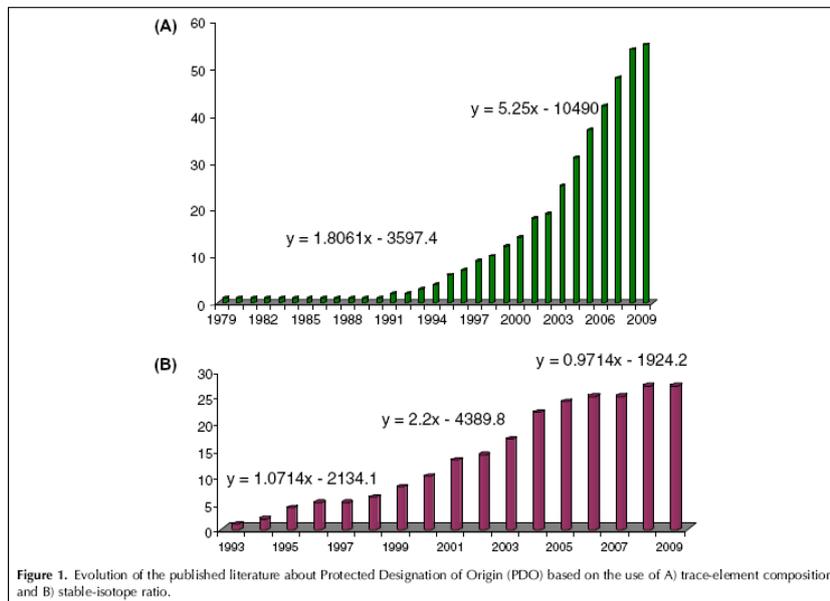


Abbildung 3: Entwicklung der veröffentlichten Literatur über geschützte Ursprungsbezeichnung basierend auf der Verwendung von A) Spurenelementen und B) Stablen Isotopen. Quelle: (Gonzalvez et al., 2009)

Es gibt zahlreiche Versuche, die geographische Herkunft verschiedenster Lebensmittel wie Fleisch, Wein, Milchprodukte, Zerealien, Honig und Getränke mit Hilfe von analytischen und chemometrischen Methoden nachzuweisen. Die relevante Literatur wurde von (Kelly et al., 2005) und (Gonzalvez et al., 2009) bis zum Jahr 2009 zusammengefasst. In Kapitel 4.3.5. Möglichkeiten zur Herkunftsbestimmung pflanzlicher Öle soll nur auf die Literatur der geographischen Herkunftsbestimmung der pflanzlichen Öle näher eingegangen werden.

4.3.2 Stabile Isotope

Durch Stabilisotopenanalytik ist es möglich, die Herkunft und die Authentizität von Lebensmitteln zu untersuchen (Stöckigt et al., 2005). Die isotopischen Verhältnisse werden in δ -Werten (‰) im Verhältnis zu internationalen Standards ausgedrückt. Die allgemeine Formel lautet: $\delta = (R_{\text{Probe}} - R_{\text{Standard}}) / (R_{\text{Standard}}) * 1000$ (‰) (Kühbauch, 2007). Die Elemente Wasserstoff, Sauerstoff, Kohlenstoff, Schwefel und Stickstoff kommen in der Natur nicht monoisotopisch (Atome mit gleicher Kernladungszahl aber unterschiedlicher Neutronenzahl) vor, sondern aus einem Gemisch stabiler Isotope. Diese Isotope eines Elementes verhalten sich unterschiedlich in ihren chemischen und physikalischen Eigenschaften, dies wird als Isotopeneffekt bezeichnet. Auch in der Natur, bei der Biosynthese von Molekülen in Pflanzen und Tieren, können solche kinetische und physikalische Isotopeneffekte vorkommen, dadurch gibt es unterschiedliche Isotopenverhältnisse und es kann auch eine Fraktionierung der stabilen Isotope in den Elementen stattfinden (Heier, 2006). Das Isotopenverhältnis einiger Elemente eines Lebensmittels kann aufgrund geographischer, klimatischer, botanischer und biochemischer Einflüsse variieren. Wasserstoff und Sauerstoff ist Indikator für die klimatischen Bedingungen. Das Stickstoff- Kohlenstoffverhältnis hängt von den lokalen landwirtschaftlichen Praktiken, bei Tieren von deren Fütterung, ab. Die stabilen Isotopenverhältnisse von Wasserstoff und Sauerstoff sind zur Charakterisierung des geographischen Ursprungs geeignet, da sie vom Breitengrad abhängig sind. Wasser, das den Meteorologischen Zyklus (Verdunsten-Kondensation-Niederschlag) durchläuft und letztlich unser Grundwasser bildet, besitzt ein systematisches geographisches Isotopen-Abhängigkeitsverhältnis. Mit sinkenden Temperaturen kommt es zu einem schrittweisen Abbau der schweren Isotope des Niederschlags, wenn sich der Wasserdampf vom Meer in äquatoriale Regionen und in Erhebungen über dem Meeresspiegel bewegt. Die Verdunstung des Wassers der Ozeane ist ein fraktionierender Prozess, welcher die Konzentration der schweren Isotope des Wassers in den Wolken ($^1\text{H}^2\text{H}^{16}\text{O}$, $^1\text{H}^1\text{H}^{18}\text{O}$) gegenüber dem Meer senkt. Die Senkung der Deuterium Konzentration findet statt, wenn die Wolken Richtung Inland ziehen und höher über dem Meeresspiegel liegen. Das Grundwasser spiegelt dann diesen isotopi-

schen Gradient von der Küste in Richtung Inland wider. Man nennt dieses Leichterwerden des Sauerstoffs und Wasserstoffs mit zunehmender Meereseisentfernung Kontinental-effekt. Dieser wird von jahreszeitlichen Einflüssen, örtlichem Klima und der Höhenlage überlagert. Ähnlich wie ^2H verhält sich auch ^{18}O in der Hydrosphäre. Der ^{18}O und der Deuterium Gehalt von Wasser, welches Tiere konsumieren, korreliert streng mit dem ^{18}O und Deuterium Gehalt von organischen Verbindungen wie Milch, Butter und Käse. C_3 und C_4 Pflanzen unterscheiden sich im Stoffwechsel in der Art wie sie CO_2 assimilieren. C_3 Pflanzen verwenden hierzu den Calvin photosynthetischen Stoffwechsel, welcher ^{13}C senkt und weisen deshalb ein kleineres $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Verhältnis auf als C_4 Pflanzen, welche den energieeffizienteren Hatch-Slack Stoffwechsel nutzen. C_4 Pflanzen kommen in warmen Klimaten, in niedrigeren Breitengraden, wie in den Tropen vor, wo hingegen C_3 Pflanzen in höheren Breitengraden dominieren. Dieser sinkende $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Gradient vom Äquator zu den Polen kann auch zur Bestimmung des geographischen Ursprungs genutzt werden. ^{15}N beinhaltet Information über die regionale landwirtschaftliche Praxis (Düngung), ergänzende Informationen dazu erhält man über das stabile Schwefel Isotopen Verhältnis. Beim Abbau des Schwefels kommt es zu keiner Fraktionierung. Der organische Schwefel bezieht sich direkt auf seine Quelle, deswegen kann er eine hilfreiche Information für den geographischen Ursprung sein (Bontempo et al., 2009; Hermann and Voerkelius, 2008; Iacumin et al., 2009; Kelly et al., 2005; Martin and Martin, 2003).

4.3.3 Radiogene Isotope

Ein wesentlicher Unterschied der radiogenen, gegenüber der stabilen Isotopensignatur ist, dass erstere je nach Halbwertszeit eine extrem lange Zeit für die Bildung benötigt und dass sie nur aus dem geologischen Umfeld ererbt werden kann. Das radiogene Isotopenverhältnis entsteht durch den radioaktiven Zerfall eines Mutternuklid und dem damit verbundenen radiogenen Zuwachs an Tochternuklid. Die Isotopensignatur ist die Häufigkeit eines radiogenen Isotops und wird als Verhältnis zu einem stabilen Isotop

angegeben. Das örtlich und zeitlich variable radiogene Isotop wird auf ein nicht radiogenes Isotop desselben Elements bezogen z.B. $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ -Wert. Es kann aber auch, gleich wie bei den stabilen Isotopen, die Häufigkeit eines Isotops als Abweichung von einem Standard angegeben werden (z.B. $\delta^{87}\text{Sr}$). In der Praxis werden hauptsächlich Isotopensignaturen der Elemente Strontium und Blei verwendet, seltener auch des Neodyms (Nd). Der Zuwachs an Tochternukliden ist dabei eine direkte Funktion des Alters eines Gesteins und der jeweiligen Mutter-Tochter-Elementverhältnisse z.B. Rb/Sr, U/Pb bzw. Th/Pb (Hözl et al., 2007). Strontium hat 4 natürlich vorkommende Isotope, welche nach ihrer Häufigkeit variieren, abhängig vom radiogenen Anteil ^{87}Sr (Rosman and Taylor, 1998). Die Isotope ^{84}Sr , ^{86}Sr und ^{88}Sr treten in konstanten relativen Anteilen auf, während ^{87}Sr abhängig ist vom β -Zerfall von ^{87}Rb (Halbwertszeit von 48,8 Milliarden Jahren) und über die Zeit erhöht werden kann. Das primordiale $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ Verhältnis (0,699) hat sich stetig vergrößert, das Sr-Isotopen Verhältnis von Gesteinen variiert gemäß seinem Alter und dem Rb/Sr Verhältnis, sodass das $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ Verhältnis zur Bestimmung des Alters und der Herkunft für verschiedene Gesteinstypen verwendet werden kann. Basaltgestein hat die kleinsten $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ Verhältnisse mit 0,702-0,706 und die silikatreichen Gesteine wie Granit und Gneis zeigen die höchsten $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ Verhältnisse mit 0,710-0,750. Das Sr-Verhältnis der Gesteine wird in die Böden durch Witterung exportiert und gelangt durch die Pflanzen und das Trinkwasser in die Biosphäre. Das Meerwasser ist der größte Speicher von gelöstem Sr und hat heute ein konstantes $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ Verhältnis $0,70906 \pm 0,00033$, unabhängig von welchem Ozean es stammt.

Durch biologische Prozesse in der Pflanze oder im Tier kommt es zu keiner Fraktionierung von Sr, weshalb es zulässig ist, das Sr-Isotopenverhältnis zur Identifizierung des geographischen Ursprungs heranzuziehen (Stewart et al., 1998).

Das Blei-Isotopensystem gilt als ein Besonderes, da gleich drei radioaktive Zerfallssysteme in Isotopen des Elementes Blei enden; $^{232}\text{Th} \rightarrow ^{208}\text{Pb}$ (Halbwertszeit von 13,9 Milliarden Jahren), $^{238}\text{U} \rightarrow ^{206}\text{Pb}$ (Halbwertszeit von 4,5 Milliarden Jahren) und $^{235}\text{U} \rightarrow ^{207}\text{Pb}$ (Halbwertszeit von 0,7 Milliarden Jahren). Diese Methoden zur Altersdatierung werden vor allem bei Gesteinen angewandt (Hözl et al., 2007).

4.3.4 Spurenelemente und Seltene Erden

Der Gehalt von Spurenelementen in Lebensmittel reflektiert deutlich den Bodentyp und die Wachstumsbedingungen. Die Spurenelementzusammensetzung des Tiergewebes reflektiert jene der Vegetation, die sie verzehren. Die Vegetation reflektiert die Zusammensetzung der Bioverfügbarkeit und Mobilisierung der Nährstoffe des Substrates, auf der sie kultiviert wird. Sehr leicht mobilisiert und in die Pflanzen transportiert werden Rb und Cs, welche gute Indikatoren für den geographischen Ursprung sind. Die Spurenelementverfügbarkeit ist von verschiedenen Faktoren abhängig, wie pH-Wert des Bodens, Feuchtigkeitsgehalt, Porösität, Tonanteil usw. (Kelly et al., 2005). Die Seltenen Erdelemente bestehen aus einer Gruppe von trivalenten metallischen Elementen mit ähnlichen chemischen Eigenschaften, und variieren mit einer Atommasse von 139 La (Lanthan) bis 175 Lu (Lutetium). Üblich ist auch die Zuordnung von Scandium (45) und Yttrium (89) zu dieser Gruppe. Für den Umfang der seltene Erden gibt es in der Literatur keine einheitliche Definition. Sie werden manchmal über die Elektronenkonfiguration, Füllung des 4f-Orbitals, definiert. Da das 4f-Orbital aber ab dem Ytterbium voll ist gehört das Lutetium normalerweise nicht mehr dazu. Die Definition nach Gmelin, *handbook of inorganic chemistry*, zielt auf die ähnlichen Eigenschaften ab, nach ihr gehören zusätzlich noch Lanthan und Yttrium, mit Einschränkung auch Scandium zu den Seltenen Erden. Die Lanthanoide kommen in der Natur als 3-wertige Ionen vor. Eine Ausnahme bilden Ce(IV) und Eu(II) (Brookins, 1989).

4.3.4.1 Geschichte der Entdeckung der Seltenen Erdelemente

Als Mendeleev 1869 das Periodensystem vorschlug, waren nur 4 der 17 Seltenen Erden bekannt, Yttrium, Lanthan, Cerium und Erbium. Promethium wurde erst 1945 entdeckt und kommt nicht in der Natur vor. Promethium ist ein Spaltprodukt des Urans. Es dauerte mehr als 150 Jahre bis alle 17 Seltenen Erdmetalle entdeckt und isoliert werden konnten. Das erste Mineral, das Seltene Erde enthielt, wurde 1751 vom schwedischen Mineralogen A. F. Cronstedt in einem schwedischen Steinbruch entdeckt. Aus diesem

schweren Stein haben M. H. Klaproth und J. Berzelius 1804 unabhängig voneinander eine unbekannte Erde/Oxid isoliert. Diese wurde Cerit genannt, zu Ehren des neu entdeckten Asteroiden Ceres. 1788 entdeckte der schwedische Mineraliensammler Axel von Arrhenius einen schweren schwarzen Stein in der Feldspatmine bei Ytterby, einem Vorort von Stockholm. Andere Mineralogen und Chemiker bestätigten und stellten fest, dass der „neue Stein“ zu 38 % aus einer unbekanntenen Erde besteht. Diese neue Erde wurde Ytter Erde genannt. Wegen der Ähnlichkeiten der Cerium Erde und der Ytter Erde dachte man zuerst, dass beide Erden ident sind. 1839 gelang es aber dem schwedischen Chemiker Carl Gustav Mosander sechs neue Elemente aus den zwei Erden zu separieren und zu identifizieren. Aus der Cerium Erde wurden Cerium, Lanthan und Didymium isoliert und aus der Ytter Erde Terbium, Erbium und Yttererde. Spätere Forschung konnte zeigen, dass die drei Elemente Didymium, Terbium und Erbium nicht pure Metalle sind. Durch immer weiter fortschreitende Analysenmethoden konnten bis 1905 die Oxide Scandium, Yttrium, Lanthan und allen Lanthanoiden bis auf Promethium aus Cerit- und Yttererde isoliert werden. Bis 1913 hat das damalige Periodensystem aber nur für eines der neuen Elemente Platz, erst mit der von Mosley veröffentlichten Arbeit über die Ordnungszahlen fanden im neuen Periodensystem weitere 14 Elemente Platz. Das letzte noch unbekannt Element der Seltenen Erden mit der Ordnungszahl 61 wurde 1947 von J. A. Marinsky, L. E. Glendenin und C.D. Coryell die Existenz des Promethium in den Spaltprodukten des ^{235}U nachgewiesen (Habashi, 1994).

4.3.4.2 Seltene Erden - Pflanzen - Boden

In letzter Zeit wurde der Einsatz der Seltenen Erden in der Landwirtschaft und in der Industrie immer beliebter. Vor allem in China werden die Seltenen Erden als Dünger in der Landwirtschaft verwendet. Viele Arbeiten zeigen einen positiven Effekt auf die Steigerung der Photosyntheserate von Pflanzen, auch auf eine Erhöhung des Ernteertrages, sowie einer Verbesserung der Früchtequalitäten (Liang et al., 2001). Eine andere Quelle der Kontamination der Umwelt mit beträchtlichen Mengen an SEE, ist die atmosphäri-

sche Emission der petrochemischen Industrie (Hedrick, 1995; Kitto et al., 1992; Pritchett and Fisher, 1987).

Es gibt keine Belege dafür, dass die SEE für das Pflanzenwachstum essentiell sind, aber Studien darüber, dass die SEE in der Lage sind, die Pflanze zu stimulieren, um Nährstoffe zu absorbieren, zu transportieren oder zu assimilieren (Pang et al., 2002).

Nach der Benutzung von SEE haltigen Dünger bei Reis wurde die Absorption von N, P, und K im Reis um 16,4; 12 und 8,5 % erhöht (El-Ramady, 2008).

Die SEE können von den Pflanzen nach Aufsprühen auch über die Blattoberfläche aufgenommen werden (Sun et al., 1994). Normalerweise findet die Aufnahme ausschließlich über die Wurzeln statt. Die Konzentration der SEE steigt von Wurzeln, über die Blätter, bis zu den Samen an (Ding et al., 2005; Liang et al., 2001).

Die Verfügbarkeit der SEE im Boden für die Pflanze ist von einigen Faktoren abhängig. Je höher die Verfügbarkeit ist, desto höher ist die SEE Aufnahme durch die Pflanze. Die Verfügbarkeit von SEE im Boden ist abhängig von der Wasserlöslichkeit und austauschbaren Fraktion an SEE. Diese sind abhängig von den physikalisch-chemischen Eigenschaften des Bodens, wie pH-Wert, Redoxpotential und die Kationenaustauschkapazität (El-Ramady, 2008).

Der pH-Wert des Bodens, die Ionenkonzentration und andere chemische Eigenschaften des Bodens, werden durch die Pflanzenwurzeln beeinflusst (Hinsinger et al., 2001). Wenn die Pflanzenwurzeln Kationen absorbieren, müssen sie H^+ -Ionen freisetzen, um ihre Elektroneutralität zu bewahren (Nye, 1981). Deswegen kann sich der pH-Wert in der Nähe der Wurzel von dem Unterscheiden, der weiter weg von der Wurzel bestimmt wird. Dieses Phänomen sollte auch die Mobilität und die Bioverfügbarkeit der SEEs im Boden beeinflussen, da der pH-Wert die SEE Ablösung beeinflusst (Shan et al., 2002).

Der für die Pflanze verfügbare SEE Gehalt ist in sauren Böden höher, als in kalkhaltigen Böden. Es ist eine negative Korrelation zwischen Boden pH und Verfügbarkeit der SEE für die Pflanze im pH-Bereich 6 – 10 erkennbar. Die SEE Verfügbarkeit für Pflanzen

steigt mit dem Lehmanteil und dem Gehalt an organischem Material im Boden. (Xiong et al., 2000).

Pflanzliche Samen und Öle weisen größere Anteile an organischen Stoffen als an anorganischen Stoffen auf, deshalb sind die Konzentrationen der SEE in pflanzlichen Ölen, im Verhältnis zu den Konzentrationen im Boden, sehr gering (Castillo et al., 1999; Giaccio et al., 1993).

4.3.5 **Möglichkeiten zur Herkunftsbestimmung pflanzlicher Öle**

Es gibt sehr viele Versuche die Rückverfolgbarkeit der Herkunft von Olivenöl zu gewährleisten. Auch Olivenöl zählt zu den geschützten Produkten der EU. 79% der Weltproduktion von Olivenöl kommt aus den mediterranen Ländern Spanien, Italien und Griechenland. Bei neuesten Studien passieren die Klassifizierungen auf den flüchtigen Anteilen des Olivenöls. Die Analyse der flüchtigen Anteile des Olivenöls erfolgt mit einer automatisierten Head-space solid-phase microextraction (HS-SPME), gekoppelt mit einer Gaschromatographie-iontrapmassspectrometry (GC-ITMS). Die chemometrische Analyse wurde mit einer Linearen Diskriminanzanalyse (LDA), mit einer Recognition von 81,4 % und einer Prediction von 61,7 % und mit einem künstlichen neuronalen Netzwerk mit Multilayer Perceptrons (ANN-MLP), mit einer Recognition von 90,1 % und einer Prediction von 81,1%, durchgeführt (Cajka et al., 2010).

Es gibt auch neue Versuche die Authentizität von nativem Olivenöl mit multivariater Analyse, passierend auf einem ^1H NMR Fingerprint der unverseifbaren Fraktion des Öls, zu ermitteln. Zur multivariaten Datenanalyse wurden LDA, PLS-DA, SIMAC und CART verwendet. Die beste Klassifizierung wurde mit der PLS-DA erzielt (Alonso-Salces et al., 2010).

Durch die Kombination der stabilen Isotope H, C, und O mit den 14 chemischen Elementen (Mg, K, Ca, V, Mn, Zn, Rb, Sr, Cs, La, Ce, Sm, Eu, U) gelang eine gute Diskri-

minierung von Olivenölen aus 8 verschiedenen europäischen Gebieten, mit 95 % korrekter Zuordnung (Camin et al., 2010a).

Native Olivenöle konnten, durch ihren unterschiedlichen Anteil an flüchtigen Verbindungen wie Alkohole, Ester, Aldehyde und Ketone, ihrer geographischen Herkunft zugeordnet werden. Zur Analyse der flüchtigen Verbindungen wurde eine Headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) angewendet. 27 Verbindungen wurden mit GC-FID und GC-MS detektiert (Youssef et al., 2011).

Der Lavandin ist eine natürliche Kreuzung aus dem *Lavandula angustifolia* und *Lavandula latifolia* und wird in Südfrankreich für die ätherische Ölproduktion kultiviert. In GLEOCA (Grosso Lavandin Essential Oils of Controlled Area) Proben werden standardweise 13 Kohlenwasserstoffe und sauerstoffhaltige Verbindungen von der Parfumindustrie kontrolliert. Diese werden mittels MID-IR (mid-infrared spectroscopy) und Gaschromatographie quantifiziert. Mit diesen standardweise kontrollierten Parametern ist es gelungen mittels PLS-DA durch die Software Unscrambler eine Klassifizierung in die 3 geographischen Herkünfte „Simiane“, „Puimoisson“ und „Riccherenches“ erfolgreich durchzuführen (Bombarda et al., 2008).

4.3.6 Chemometrische Methoden zur geographischen Herkunftsbestimmung

Die Erkennung von verschiedenen Mustern ist multivariate Datenanalyse. Analytische Daten werden in Datenlisten oder Datentabellen zusammengefasst. Aus mathematischer Sicht handelt es sich hier nur um Vektoren bzw. Matrizen. Da zur Authentifizierung von Lebensmitteln höherdimensionale Datensätze (z.B. Spurenelementprofile) benutzt werden, sind Methoden der mathematischen Datenanalyse notwendig, um bestimmte Strukturen (Gruppierungen, Klassen) in den Daten aufzufinden. Um diese relevante Information aus den Daten zu extrahieren, wendet man die multivariate Datenanalyse an. (Kessler, 2007)

Die multivariate Datenanalyse kann in zwei Gruppen eingeteilt werden. In die der überwachten und der unüberwachten Klassifizierung. Bei der unüberwachten Klassifizierung, hierzu gehören die Hauptkomponentenanalyse (PCA) und die Clusteranalyse (CA), gibt es keine Vorinformation über den Datensatz. Sie kann verwendet werden, um Muster oder Strukturen in einem Datensatz zu erkennen. Diese Verfahrensgruppe bietet sich an, wenn über eine Klasseneinteilung der Objekte keine oder nur eine vage Vermutung vorliegt, oder, wenn ermittelt werden soll, ob sich eine natürliche, gegebene Klasseneinteilung im Muster der gemessenen Variablen widerspiegelt. (Kessler, 2007)

Bei der überwachten Klassifizierung sind die Objektgruppen in einem Datensatz von vornherein fixiert (z.B. Lebensmittelsorten usw.). Eine Zuordnung der neuen, unbekannt Objekte, erfolgt zu einer Gruppe. Die überwachte Klassifizierung benötigt ein Trainingsset mit Objekten bekannter Herkunft, um ein Modell zur Identifizierung der unbekannt Proben zu erstellen. Deswegen ist sicherzustellen, dass der hierfür verwendete Datensatz frei von Fehlern ist. Dies wird von der explorativen Datenanalyse (EDA) übernommen. Ziel der EDA ist es, den Datensatz zu vereinfachen, Strukturen, Auffälligkeiten und Beziehungen im Datenmaterial aufzudecken und ein besseres Verständnis des Datensatzes zu erreichen. (Berrueta et al., 2007; Danzer et al., 2001; Henrion and Günter, 1995).

Der erste Schritt in der EDA ist die univariate Datenanalyse, welche die Ermittlung des Mittelwertes, Standardabweichung, Varianz, Schiefe, Kurtosis, Korrelationsmatrix, A-NOVA, Box – und Whisker Plots und die Überprüfung auf Normalverteilung enthält. Das Hauptelement der EDA-Techniken ist die PCA (Berrueta et al., 2007).

4.3.6.1 Explorative und unüberwachte Techniken - PCA

In die Chemie kam die Hauptkomponentenanalyse durch Edmund Malinowski und Bruce Kowalski um 1960. Sie nannten das Verfahren Faktorenanalyse. Bei der PCA werden aus den Ausgangsdaten, die man Variablen nennt, latente Variablen berechnet, die man

dann als Hauptkomponenten oder Faktoren bezeichnet. Die Hauptkomponenten sind, mathematisch betrachtet, eine Linearkombination aus den ursprünglichen Variablen, das heißt, dass sie sich aus einer linearen Summe der unterschiedlich gewichteten Originalvariablen zusammensetzen. Der Vorteil dieser künstlichen Größen besteht darin, dass sie mehr Information übertragen, als jede einzelne Ausgangsvariable. Das wichtigste Ziel der PCA liegt also in der Reduzierung der Daten, dazu werden die beobachteten Merkmale durch die Hauptkomponenten zusammengefasst, und mit ihnen die Objekte beschrieben (Kessler, 2007).

4.3.6.2 **Partial least square Regression (PLS)**

Die PLS zählt zu den Regressionsmethoden. Mit ihr kann man, zum Unterschied zur Korrelationsrechnung (PCA), welche den Grad des Zusammenhangs zwischen zwei unabhängigen Variablen bestimmt, den funktionalen Zusammenhang zwischen einer abhängigen und einer unabhängigen Variablen beschreiben. Die PLS benützt bei der Ableitung der Hauptkomponenten für die x-Daten bereits die Struktur der y-Daten und die Hauptkomponenten werden damit leichter interpretierbar. Somit ist sie in den letzten Jahren das Mittel zur Wahl geworden. Es gibt zwei verschiedene Verfahren der PLS Regression, PLS1 und die PLS2. Bei der PLS1 wird für eine y-Variable aus vielen x-Variablen ein Regressionsmodell erstellt, bei der PLS2 wiederum werden für mehrere y-Variablen gleichzeitig aus mehreren x-Variablen Regressionsmodelle erstellt. In der Praxis hat sich herausgestellt, dass man in der Regel bessere Ergebnisse erhält, wenn man mehrere PLS1 Modelle hintereinander macht als ein PLS2 Modell (Kessler, 2007).

4.3.6.3 **Vorhersage mit PLS-Modellen**

Aus den x- und y-Daten aller Objekte wird ein PLS-Modell erstellt. Nach der Berechnung des Modells werden für alle Objekte die y-Daten mit diesem Modell vorhergesagt. Der Kalibrierfehler (RMSEC) ergibt sich aus der Differenz des vorhergesagten und gemessenen

nen Wertes. Der Kalibrierfehler sollte möglichst klein sein, um eine gute Vorhersage zu bekommen. Das erstellte PLS-Modell muss jetzt noch validiert werden. Die dazu verwendeten Daten sollten aus dem Datenraum der Kalibrierdaten stammen, und sich ähnlich verhalten, wie jene Daten, die später mit diesem Modell vorhergesagt werden sollen. Von den Validierdaten wird mit dem Modell der y -Wert berechnet und dieser wieder mit dem wahren Wert verglichen und daraus der Validierfehler (RMSEP) berechnet. Je kleiner der Validierfehler ist, desto kleiner wird auch der Vorhersagefehler für unbekannte Proben sein. Für die Validierung stehen zwei Methoden zur Wahl, entweder man verwendet ein separates Test Set oder die Kreuzvalidierung. Das separate Test Set ist die beste Methode, man braucht dazu aber sehr viele Daten, die den Kalibrierdaten möglichst ähnlich sein sollten, was in der Praxis häufig zu Schwierigkeiten führt. Am besten wäre es, den Kalibrierdatensatz 2:1 auf Kalibrierdaten und Validierdaten aufzuteilen, dies scheitert aber oft an mangelnden Kalibrierdaten. Bei der Kreuzvalidierung nimmt jedes Objekt sowohl an der Kalibrierung als auch an der Validierung teil. Hier werden von den Kalibrierdaten einige Daten weggelassen. Ohne sie wird ein Modell erstellt, diese weggelassenen Daten werden dann mit diesem Modell vorhergesagt und der Fehler bestimmt. Dies wird öfter hintereinander wiederholt, bis alle Daten mindestens einmal ausgelassen wurden und mit dem Modell aus den anderen Daten vorhergesagt wurden. Mit diesem erstellten, validierten Kalibriermodell können nun unbekannte Proben vorhergesagt werden. Das Ergebnis der Vorhersage wird mit einer Abweichung angegeben. Diese Abweichung berechnet sich aus dem Abstand, den die neuen x Daten vom Modellmittelpunkt der alten x -Daten haben. Je mehr sich die neuen x -Daten von den Kalibrierdaten unterscheiden, desto größer wird die Abweichung sein; diese Abweichung kann also als Vertrauensintervall der Vorhersage angesehen werden (Kessler, 2007).

4.4 Messunsicherheit

Die Messunsicherheit eines Messergebnisses ist erforderlich für die Interpretation des Ergebnisses, da ansonsten ein Risiko einer Über- oder Unterinterpretation von Messer-

gebnissen gegeben ist. Eine Messung ist die „Gesamtheit der Tätigkeiten zur Ermittlung eines Größenwertes“ (ISO, 1994). Die Messgröße stellt die „spezielle Größe, die Gegenstand einer Messung ist“ dar. Die Messung liefert das Messergebnis, das als „einer Messgröße zugeordneter, durch Messung gewonnener Wert“ verstanden wird. Durch die Angabe der Messunsicherheit werden Messergebnisse, unter der Voraussetzung der messtechnischen Rückführung, untereinander vergleichbar. Ohne die Angabe einer Messunsicherheit mit dem Messergebnis sind Messergebnisse weder untereinander noch mit gesetzlich geregelten Grenzwerten oder Spezifikationen vergleichbar (Nestler, 2007).

„Der Leitfaden zur Angabe der Unsicherheit von Messungen“ (GUM, Guide to the expression of uncertainty, 1993) ist im Auftrag des Comité International des Poids et Mesures (CIPM) unter Beteiligung der Internationalen Organisation für Normung mit sechs weiteren Organisationen entstanden, und stellt die grundlegende Anleitung zur Bestimmung der Messunsicherheit dar. Nach dem „Guide to the Expression of Uncertainty“ erfolgt die Schätzung aller Unsicherheitskomponenten auf der Grundlage einer Modellfunktion (EURACHEM/CITAC, 2004; GUM, 2008).

Für die chemische Analytik wurde diese Vorgehensweise in einem EURACHEM-Leitfaden spezifiziert, diesem liegt der Bottom-up-Ansatz zugrunde. In diesem Ansatz werden die zufälligen Messabweichungen jeder Komponente der Methode als Standardabweichung quantifiziert. Die gesamte Unsicherheit wird durch Summation der Quadrate der Komponenten der einzelnen Messabweichungen berechnet.

Eine alternative Methode stellt der Top-down-Ansatz dar. Dieser Ansatz ist mit den Grundprinzipien des GUM vereinbar. Bei diesem Ansatz wird die Unsicherheit durch einen Vergleich mit zertifizierten Referenzmaterialien ermittelt (Magnusson et al., 2004).

Die Schritte zur Ermittlung der Messunsicherheit mittels EURACHEM/CITAC (2004) sind, wie in Abbildung 4 dargestellten, durchzuführen.

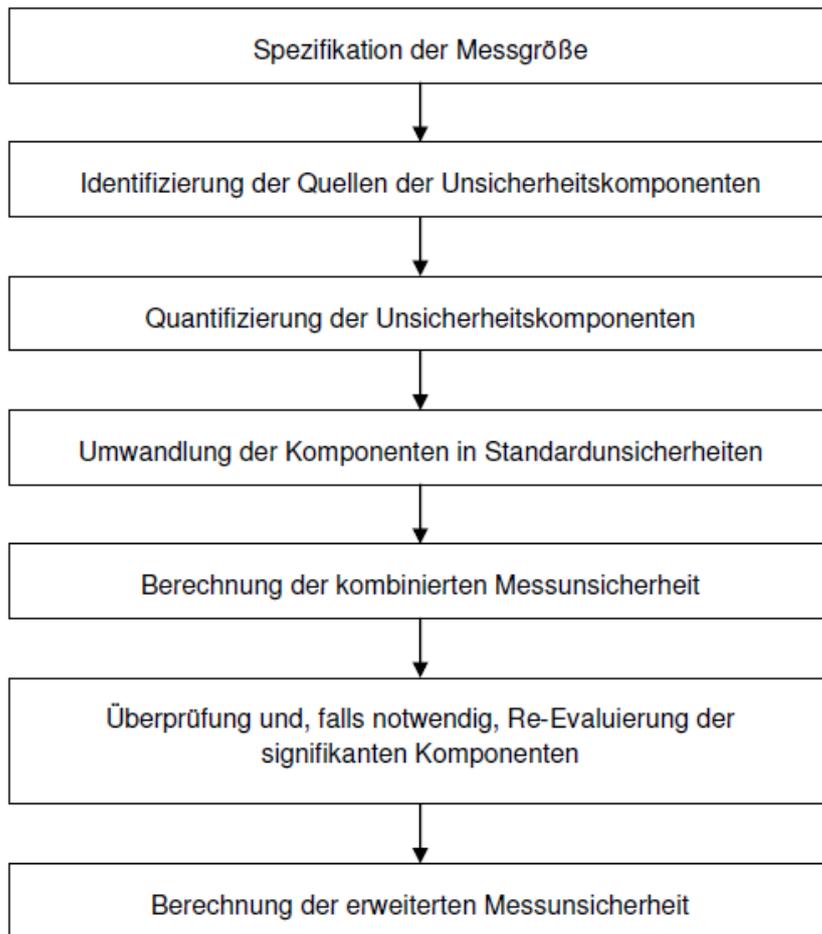


Abbildung 4: Verfahren zur Bestimmung der Messunsicherheit (EURACHEM/CITAC, 2004)

5 Problemstellung und Idee

Die Rückverfolgbarkeit ist durch die EU-Verordnung 178/2002, die am 28. Jänner 2002 verabschiedet wurde, gesetzlich geregelt. Das Ziel dieser Verordnung ist es, gemeinsame Definitionen aufzustellen und richtungsweisende Grundsätze, sowie vertretbare Ziele für das gemeinsame Lebensmittelrecht festzulegen, um einen hohen Gesundheitsschutz und das Funktionieren des Binnenmarktes zu gewährleisten (EU, 2004).

Laut der Definition des Artikel 3 Z 15 der Verordnung (EG) Nr. 178/2002 ist die "Rückverfolgbarkeit" die Möglichkeit, ein Lebensmittel oder Futtermittel, ein der Lebensmit-

telgewinnung dienendes Tier oder einen Stoff, der dazu bestimmt ist oder von dem erwartet werden kann, dass er in einem Lebensmittel oder Futtermittel verarbeitet wird, durch alle Produktions-, Verarbeitungs- und Vertriebsstufen zu verfolgen.

Die Rückverfolgbarkeit allein macht die Lebensmittel noch nicht sicher, sondern ist nur ein Instrument des Risikomanagements, welches ein Lebensmittelsicherheitsproblem begrenzen kann und den Warenrückruf unterstützt. Sie ist ein Instrument im Kampf gegen Warenfälschung und zum Schutz der Marken geworden. Von den Unternehmern wird verlangt, dass sie feststellen können, wer der direkte Lieferant und der Abnehmer ihrer Erzeugnisse ist, und die Information der Verbraucher und Kontrollbehörden im Bedarfsfall zu gewährleisten. Es wird also vom Ansatz „Ein Schritt dahinter – ein Schritt davor“ ausgegangen (EU, 2004).

Das ganze System der Lebensmittel Rückverfolgbarkeit basiert also auf einer Aufzeichnung von Daten, wie auch am Beispiel der Kürbisskerne, wo die Rückverfolgbarkeit des geographischen Ursprungs nur über eine Korrelation der Aufzeichnungen der Erntemenge mit den Anbaufläche überprüft werden kann. Es gibt aber zurzeit noch keine analytische Methode, die diese Aufzeichnungen wissenschaftlich untermauern kann.

Das angestrebte Ziel dieser Arbeit ist es, eine kostengünstige, einfache, analytische Methode zu entwickeln, die die Identifizierung der geographischen Herkunft von Kürbiskernen bzw. Kürbiskernölen gewährleistet.

Diese Arbeit wurde im Rahmen von zwei Projekten, BRIDGE (Brückenschlagprogramm) Brücke 1 und Brücke 2, von der österreichischen Forschungsförderungsgesellschaft (FFG) gefördert. Mit den Programmen Brücke 1 und 2 fördert die FFG Einzelprojekte mit überwiegender Grundlagenforschungsnähe, die bereits ein realistisches Verwertungspotenzial erkennen lassen, sodass eine Firma bereit ist, das Projekt mitzufinanzieren. Wobei das Programm Brücke 2 noch mehr Wert an die Anwendung und Umsetzung der Forschung in der Praxis legt.

Es ist bekannt, dass in der Geochemie die Muster der Seltenen Erden (Lanthanoiden) zur Identifizierung des geographischen Ursprungs herangezogen werden. Alle natürlich vorkommenden Seltenen Erdelemente (SEE) wurden in pflanzlichen Proben analysiert, und es wurde herausgefunden, dass diese Elemente, wie bereits für geologische Proben bekannt, auch in Pflanzen ein typisches Verteilungsmuster aufweisen (Markert, 1993). Seltene Erdelemente sind nicht essentielle Spurenelemente, deshalb ist eine Veränderung durch die Pflanze auch nicht zu erwarten, und die zu erwartenden Unterschiede der Elementverteilung, bedingt durch die Variation des geologischen Unterbaus des Bodens (C-Horizont), sollten sich auch in den Kernen bzw. im Öl widerspiegeln. Erste Untersuchungen einer selbst hergestellten Mischung aus gepresstem Öl verschiedener Ölmöhlen der Steiermark mit einer Präzision von 10 Verfahrenswiederholungen (QCM-Öl) sind in Abbildung 5 dargestellt. Die Balken in Abbildung 5 zeigen die Konzentration der SEE in QCM-Öl, um einen generellen Überblick der SEE Verteilung im Öl zu erhalten. Die Konzentration der SEE ist in Pflanzen nicht gleichmäßig verteilt, die Konzentration der leichten SEE ist höher als die der schweren SEE. Auch die Konzentration der SEE mit gerader Ordnungszahl, ist höher als jene der SEE mit ungerader (Oddo-Harkins Regel). Zum Vergleich des QCM-Öl Patterns mit dem des Sediments, wurde die durchschnittliche Konzentration des QCM-Öls mit 50.000 multipliziert und gleich wie der SEE Pattern des Sediments auch Chondriten normiert. Um die SEE Patterns besser miteinander vergleichen zu können und Unterschiede zu erkennen, werden in der Geochemie alle SEE-Patterns auf Chondrite bezogen. Chondrite bestehen aus körnigen Silikaten, die in eine silikatische Grundmasse eingebettet sind. Als Hauptbestandteile von Steinmeteoriten enthalten sie als Nebenbestandteile die Elementgruppe der SEE, aus der auf die Häufigkeit der SEE in unserem Sonnensystem geschlossen wird (Römpf, 1997). In Abbildung 5 wird deutlich, dass die normalisierte SEE Verteilung in QCM-Öl ähnlich ist, wie in einem typischen Sediment, eine Anreicherung der leichten Seltenen Erden, negative Europiumanomalie, sowie eine flache, konkave, nach unten tendierende Kurve der schweren Seltenen Erden.

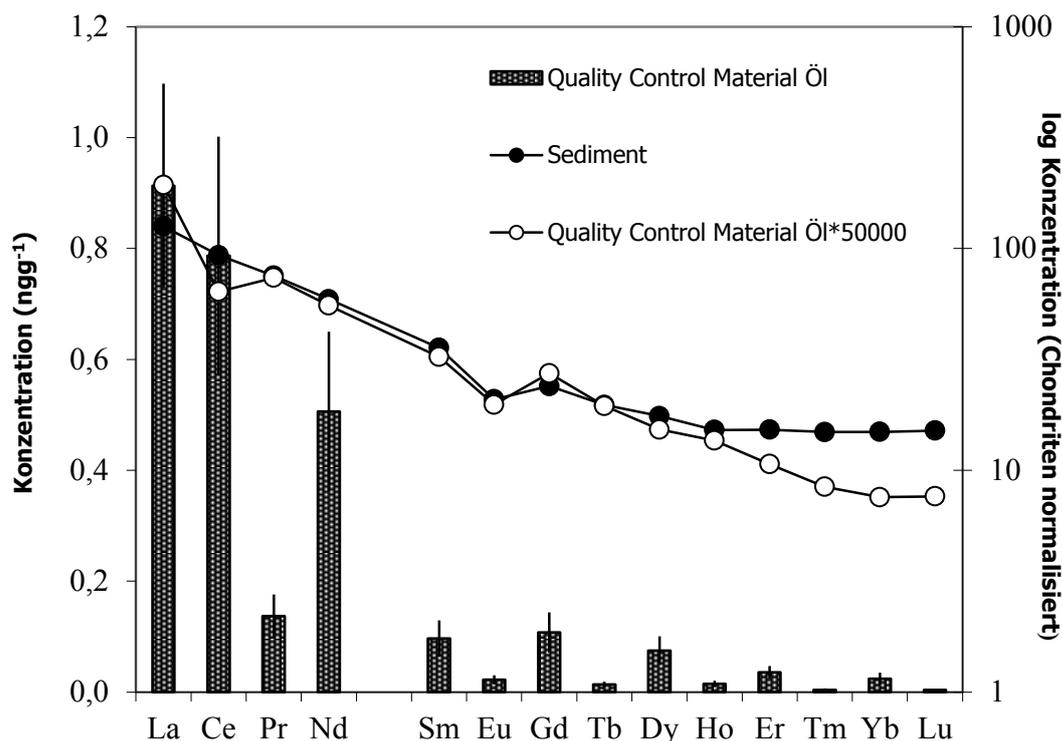


Abbildung 5: SEE Konzentrationen (linke Achse) und Chondriten normalisierte Muster (rechte Achse) des Kürbiskernölmixes (QCM-Öl) im Vergleich mit einem Sediment Referenzmaterial (SCo-1). Unsicherheiten sind Standardabweichungen. Die Chondriten Normalisierungswerte wurden von Wasson and Kallemeyn 1988 übernommen (Bandoniene et al., 2013).

In Vorversuchen wurde festgestellt, dass Kürbiskernöle unterschiedlicher geographischer Herkunft unterschiedliche Spurenelement- bzw. Seltene Erdmuster aufweisen. Um einen Überblick über regionale Unterschiede in der Zusammensetzung der Seltenen Erd Elemente und Spurenelemente zu erhalten, sollen Kürbiskerne und Kürbiskernöle von Bauern aus verschiedenen Regionen in Österreich und dem Ausland untersucht werden. Daraus soll eine Datenbank mit den verschiedenen Fingerprints der Proben aus allen Anbaugebieten aufgebaut werden, um, mittels statistischer Vergleiche dieser Muster, Rückschlüsse auf die geographische Herkunft ziehen zu können. Die Probenahme zur Erstellung der Datenbank wurde zur Gänze durch den Projektpartner Firma F. Url & Co Gesellschaft m.b.H. abgedeckt.

Ein weiteres Ziel war es, die relevanten Einflussfaktoren zu ermitteln, von welchen die Konzentrationen der Elementspuren in Kürbiskernölen und im Boden abhängig sein können. Durch die systematischen Untersuchungen der Homogenität des Bodens sollte festgestellt werden, ob es Unterschiede in der Verteilung der Seltenen Erdelemente innerhalb eines Ackers gibt und, ob es ein charakteristisches SEE-Muster für jedes Feld gibt. Ebenso soll überprüft werden, ob das SEE-Muster der Kürbiskerne innerhalb eines Feldes stabil bleibt und wiederholbar ist über größere Zeiträume und welche minimale Probenmenge (Anzahl an Kürbissen) für ein Versuchsfeld repräsentativ ist. Außerdem wird untersucht, ob es einen direkten Zusammenhang zwischen der Spurenzusammensetzung des Bodens und des Kürbiskernöls gibt. Im Zuge dieser Arbeit wurde auch der Einfluss auf die Verteilung der SEE bei der Verarbeitung, beim Pressen der Kerne in einer Ölmühle, oder bei der Ölextraktion im Labor untersucht.

6 Experimentelles

Teile die in Kapitel 6 Experimentelles beschrieben werden, wurden bereits in „Identification of the geographical origin of pumpkin seed oil by the use of rare earth elements and discriminant analysis“ (Joebstl et al., 2010), „Suitability of elemental fingerprinting for assessing the geographic origin of pumpkin (*Curcubita pepo* var. *Styriaca*) seed oil“ (Bandoniene et al., 2013) sowie in „Identifizierung der geographischen Herkunft von Kürbiskernölen“ (Joebstl et al., 2008) publiziert.

6.1 Probenahme

Die Probenahme ist der wichtigste Teil eines analytischen Verfahrens. Er hat den größten Einfluss auf die Qualität der Ergebnisse und liefert den größten Beitrag zur Messunsicherheit (Ramsey and Ellison, 2007).

Um die relevanten Einflussfaktoren zu ermitteln, wurden systematische Untersuchungen der wichtigsten Einflussfaktoren (Homogenität der Böden und der Kürbiskerne, Zusammensetzung von Böden, Reifegrad der Kürbisse, Kontamination oder dem Verlust der Analyten während der Verarbeitung bzw. Probenvorbereitung), unter kontrollierten Bedingungen, mit Hilfe von Versuchsfeldern durchgeführt. Die sechs beprobten Versuchsfelder von fünf landwirtschaftlichen Betrieben in Österreich und einem Betrieb aus Ungarn sind nachfolgend aufgelistet:

- Feld 1 Saatzucht Gleisdorf (SZ Gleisdorf), Steiermark ist ca. 150 x 70 m groß und in 24 Parzellen aufgeteilt. Größe einer Parzelle ca. 18,7 x 23,3 m.
- Feld 2 Landwirtschaftliche Versuchsanstalt für Spezialkulturen Wies (LVA Wies), Steiermark, ist ca. 6,6 x 30 m groß und in 18 Parzellen aufgeteilt. Größe einer Parzelle ca. 3,3 x 3,3 m.
- Feld 3 Ungarn (Öczed) ist ca. 100 x 100 m groß und in 25 Parzellen aufgeteilt. Größe einer Parzelle ca. 20 x 20 m.

- Feld 4 Jennersdorf, Burgenland ist ca. 100 x 100 m groß und in 25 Parzellen aufgeteilt. Größe einer Parzelle ca. 20 x 20 m.
- Feld 5 Dobersberg, Niederösterreich ist ca. 100 x 100 m groß und in 25 Parzellen aufgeteilt. Größe einer Parzelle ca. 20 x 20 m.
- Feld 8 St. Bartholomä, Steiermark ist ca. 122 x 122 m groß und in 16 Parzellen aufgeteilt. Größe einer Parzelle ca. 30 x 30.

Die Probenahme, der Böden und der Kürbiskerne der Versuchsfelder 3, 4 und 5 wurde von der Firma F. Url & Co. Gesellschaft m.b.H. durchgeführt. Die Beprobung des Versuchsfelds 1 wurde von der Saatzucht Gleisdorf und jene des Versuchsfeldes 2 von der Landwirtschaftlichen Versuchsanstalt Wies durchgeführt. Das Versuchsfeld 8 St. Bartholomä wurde gemeinsam mit der Firma F. Url & Co. Gesellschaft m.b.H. beprobt.

6.1.1 Probenahme Boden

Für die Untersuchung der SEE-Verteilung innerhalb eines Feldes und zwischen den einzelnen Versuchsfeldern, wurden im Frühling 2006 vor der Düngung und dem Anbau von Kürbissen, Bodenproben von den oben genannten Versuchsfeldern 1 bis 5 entnommen. Von jeder Parzelle wurden je eine Laborprobe für die Tiefe von 0 - 5 cm und von 5 - 10 cm entnommen. Dafür wurden gleichmäßig verteilt zehn Bodenproben mit einem Bodenprobenbohrer von einem Raster entnommen und gemischt. Insgesamt wurden für die Versuchsfelder 3 bis 5 je 50 Laborproben, vom Versuchsfeld 2 36 Laborproben und vom Versuchsfeld 1 48 Laborproben gesammelt.

Um den Witterungseinfluss auf die SEE-Verteilung im Boden zu überprüfen, wurde eine Bodenprobenahme der Versuchsfelder 2 und 5 über zwei Jahre (jeweils im Frühling und Herbst 2006 - 2007) durchgeführt. Für diese Untersuchung wurde je eine Mischprobe der Versuchsfelder 2 und 5 von zehn Parzellen zufällig verteilt genommen.

6.1.2 Probenahme Kürbiskerne

Von jeder Parzelle der Versuchsfelder 1 und 2 wurden Kürbisse geerntet. Deren Kürbiskerne wurden zum Vergleich des SEE-Fingerabdrucks im Boden der Versuchsfelder 1 und 2 und im Kürbiskernöl herangezogen.

Um die Homogenität und die Wiederholbarkeit des SEE-Musters der Kürbiskerne innerhalb eines Feldes zu überprüfen, wurde das Versuchsfeld 8 St. Bartholomä herangezogen. Dazu wurde von jeder Parzelle jeweils ein Kürbis geerntet. Im Labor wurden die Kürbisse geteilt, die Kerne entnommen und in einem HERAEUS-Heißlufttrockenschrank bei 60 °C getrocknet. Von den sechzehn Kürbissen konnten nur vierzehn zur Analyse herangezogen werden, da die restlichen bei der Lagerung (angefault) beeinträchtigt wurden. Die Homogenität und die Wiederholbarkeit des SEE-Musters der Kürbiskerne innerhalb eines Feldes wurden auch bei Versuchsfeld 2 Wies überprüft. Hierzu wurden im Herbst 2006 von jedem der achtzehn Parzellen Kürbisse geerntet und ca. 100 – 200 g Kerne entnommen, die zur Analyse herangezogen wurden.

Um zu untersuchen ob es Unterschiede im SEE- Muster zwischen den Ölen gibt, die in kommerziellen Ölmühlen gepresst werden, und solchen, die im Labor extrahiert werden, wurden jeweils 100 kg Kürbiskerne von verschiedener geographischer Herkunft separat in der Ölmühle (Grabersdorf, Steiermark) gepresst. Von den gleichen Kürbiskernen wurden 100 -200 g im Labor zum Vergleich beprobt, diese Öle wurden dann miteinander verglichen.

6.1.3 Probenahme zur Erstellung einer Datenbank

Speziell für die gegebene Problemstellung, Identifizierung der geographischen Herkunft, muss die Authentizität der Kürbiskernölproben gesichert sein.

Die Kürbiskernproben wurden vom Projektpartner Firma F.Url bereitgestellt und die Authentizität garantiert. Es wurden insgesamt 482 Kürbiskernproben, über einen Zeitraum

von drei Jahren, von verschiedenen Feldern von Landwirten aus Österreich (g.g.A.) und dem Ausland (Russland und China) genommen (siehe Tabelle 2). Eine lückenlose Be-
 probung der Felder der einzelnen Bauern über drei Jahre war nicht immer möglich, da
 nicht jeder Landwirt jedes Jahr mit der Firma F. Url unter Vertrag stand. Die Proben
 wurden nach der Ernte bei der Anlieferung der Kerne in der Firma F. Url, gemäß ISO
 542:1990 oilseedsampling durch die Firma F. Url gezogen. Es wurde von der Kürbis-
 kernernte eines Feldes jeweils eine 100 g Kernprobe gezogen, die als Laborprobe dien-
 te.

Alle österreichischen und russischen Kürbiskernproben sind von der gleichen Sorte
 „*Gleisdorfer Ölkürbis*“, eine freiabblühende Sorte mit langtriebigen Wuchstyp, schalen-
 losen, locker im Fruchtfleisch sitzenden, mittelfrüh reifenden, großen, dunkelgrünen
 Kernen mit hohem Ölgehalt sowie Resistenz gegenüber Krankheiten und mittlere Tole-
 ranzen gegen Echten Mehltau und Bakterienkrankheiten.

Sie ist die am häufigsten verwendete Sorte in der Kürbiskernölproduktion. Somit wurde
 versucht, den Faktor Einfluss der Sorte, auf die Herkunftsbestimmung auszuschließen.
 Die chinesischen Kürbiskerne sind nicht von der Sorte „*Gleisdorfer Ölkürbis*“, sie haben
 ebenfalls keine verholzende Samenschale und der Samenkern ist nur mit einem dünnen
 Silberhäutchen überzogen.

Tabelle 2: Anzahl der Kürbiskernproben von 3 Jahren

Proben	2007	2008	2009
Gesamt	146	155	181
Ausland	50	57	70
<i>Russland</i>	21	45	43
<i>China</i>	29	12	27
Österreich	96	98	111

6.2 Ermittlung der SEE-Konzentration in Bodenproben mittels ICP-MS Messung

6.2.1 Probenvorbereitung

Alle Bodenproben wurden Luft getrocknet, zerkleinert und gesiebt, um den Anteil zu erhalten der < 2 mm ist, anschließend geviertelt und kleiner 0,1 mm mit einer Kugelschwingmühle mit Achatgraniten gemahlen (MM200, Retsch, Germany).

6.2.2 Sinteraufschluss mit Na₂O₂

Für diesen Aufschluss werden ca. 0,1 g Boden (fein gemahlen) in einen Graphittiegel eingewogen und mit 0,6 g Na₂O₂ (Natriumperoxid, 95%; Alfa Aesar GmbH & Co KG, Karlsruhe, Deutschland), fein gemahlen, versetzt. Die Bodenprobe wird mit einem Glasstab gut mit dem Na₂O₂ vermischt. Je besser der Kontakt zwischen Na₂O₂ und Boden, desto besser funktioniert der Aufschluss. Die Tiegel werden nun für 30 min zum Sintern bei 480°C in den Ofen gestellt. Es entsteht ein schwarz-brauner Sinterkuchen. Die Tiegel werden aus dem Ofen genommen und abgekühlt.

Die Tiegel werden nun außen mit ultrareinem Wasser abgespült (Verschmutzung aus Ofen) und dann in ein Plastikbecherglas (NaOH greift Glas an) gestellt, das zuvor auch mit ultrareinem Wasser ausgespült wird. Die Tiegel werden mit ultrareinem Wasser befüllt, kann auch über den Rand rinnen. Dabei reagiert das überschüssige Na₂O₂ mit Wasser zu NaOH und O₂. Ein kleiner Rührfisch wird in den Graphittiegel gegeben und das Plastikbecherglas mit Urglas zugedeckt. Das Plastikbecherglas wird auf einen Magnetrührer gestellt und bei 90 °C ca. 5 – 10 min gerührt (damit O₂ entweicht). Diese Lösung wird in ein 50 ml Zentrifugenröhrchen aus Polypropylen gefüllt und bei 4000 U/min für 5 min zentrifugiert um die unlöslichen Hydroxide abzutrennen. In den Graphittiegel wird 2 ml HCl 37 g/100g gegeben. Der Überstand des Zentrifugierten wird in einen 100 ml Messkolben geleert und das Zentrifugat in 3 ml 3 mol/l HCl gelöst und ebenfalls in den 100 ml Kolben dazugegeben. Auch die 2 ml HCl 37 g/100g vom Gra-

phittiegel wird in diesen 100 ml Kolben gegeben und gut mit ultrareinem Wasser nachgespült. Der 100 ml Messkolben wird bis zur Marke mit ultrareinem Wasser aufgefüllt.

Bei diesem Aufschluss wird auch Zirkon, ein refraktäres, schwer zu lösendes Mineral gelöst, das vor allem schwere Seltene Erden enthält. Mit der HCl werden die ausgefallenen Hydroxide (Eisen- und Aluminiumhydroxide sowie Mangan) gelöst (Meisel et al., 2002).

6.2.3 Messung der Bodenproben

Für die Messung der Bodenproben wurde ein ICP-MS System (HP4500) mit einem V-Groove Babington Zerstäuber für Bodenproben, getunt mit einer Oxidbildungsrate von $(\text{CeO}^+/\text{Ce}^+) < 0.6\%$ verwendet.

Für die quantitative Analyse des Bodens wurden für die Kalibration, 6 matrixangepasste geologische Referenzmaterialien UB-N, WGB-1, BIR-1, BCR-2, SCo-1 und G-2 sowie ein Blank verwendet. Diese Referenzmaterialien wurden ebenfalls mit dem Sinteraufschluss mit Na_2O_2 aufgeschlossen. Für den Blank wurde auch ein Sinteraufschluss ohne Probe einwaage durchgeführt. Für die Messung wurde 1 ml der aufgeschlossenen Bodenprobe oder der Kalibrierlösungen mit 1g/100 ml HNO_3 auf 5 ml Totalvolumen verdünnt. Zu jeder dieser Lösungen wurden 100 μl von einer internen Standardlösung, 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ In, zugesetzt.

In der Messequenz werden zuerst die Kalibrierlösungen beginnend mit einem Blank und weiters UB-N, WGB-1, BIR-1, BCR-2, SCo-1 bis G-2 und anschließend ca. 15 Bodenproben analysiert, wobei die letzte der 15 Bodenproben immer QCM-Soil (Quality Control Material Boden, siehe Kapitel 7) ist.

6.3 Methode zur Bestimmung der Konzentrationen von Spurenelementen in Kürbiskernölen mittels ICP-MS

Um die geringen Gehalte an Elementspuren in Ölen von wenigen ng/g bis weniger 1 pg/g quantifizieren zu können, soll eine schnelle, robuste und kostengünstige Methode mittels ICP-MS im Ultraspurenbereich entwickelt werden.

Die Methode zur Ermittlung der Konzentration von Spurenelementen in Kürbiskernöl, kann in die beiden Bereiche der Probenvorbereitung und der Messung unterteilt werden. Zum Bereich der Probenvorbereitung zählt das Mahlen der Laborprobe, die Extraktion des Kürbiskernöls und dessen Aufschluss (Abbildung 6).

Aus den Kürbiskernproben wird mittels Extraktion das Öl gewonnen. Dazu werden die Kürbiskerne mit einer Messermühle (IKA M20, Deutschland) gemahlen. Anschließend werden die gemahlene Kürbiskerne in Extraktionshülsen eingewogen und für 3 Stunden mit dem Programm Soxhlet Standard des Büchi Extraktionssystem B-811 extrahiert. Die extrahierten Öle werden mit dem Hochdruckverascher (HPA-S; Anton Paar, Graz) aufgeschlossen und anschließend die Konzentration der Elementspuren mit dem ICP-QMS (7500 Agilent Technologies) durch externe Kalibration bestimmt.

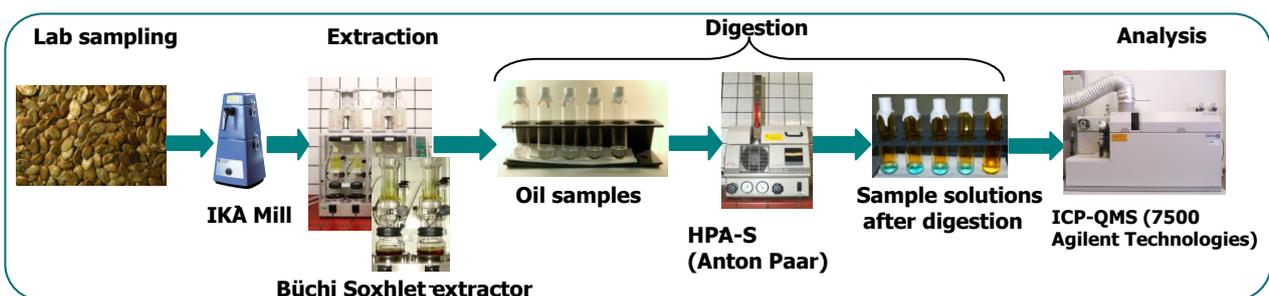


Abbildung 6: Ermittlung der Konzentration von Elementspuren in Kürbiskernöl

6.3.1 Probenvorbereitung

Je nachdem, ob direkt gepresste Öle analysiert werden, oder Kerne, ändert sich die Probenvorbereitung. Gepresste Öle können direkt mit dem HPA-S aufgeschlossen werden. Aus den Kernen muss vor einem Aufschluss das Öl extrahiert werden, und die Kerne müssen gemahlen werden. Das Mahlen der Kerne erfolgt mit einer universellen Mühle. Die Proben werden so fein gemahlen, dass das Öl gerade nicht aus den gemahlenden Kernen austritt.

6.3.1.1 Ölextraktion aus Kürbiskernen

Um eine Kontamination des Kürbiskernöls in der Mühle auszuschließen und kontrollierte Bedingungen für die Ölgewinnung gewährleisten zu können, sollte das Öl aus den Kürbiskernen direkt im Labor extrahiert werden. Ziel der Extraktionsoptimierung war es, eine quantitative und reproduzierbare Methode zur Extraktion der SEE der Kürbiskerne, mit minimalen Lösungsmittel- und Zeitverbrauch und einer optimalen Ausbeute an SEE, zu erhalten. Der Versuchsplan zur Optimierung wurde mit Statgraphics 5.0 erstellt und zweimal mit zwei Proben verschiedener geographischer Herkunft (Wies und Gleisdorf) ausgeführt. Beim Büchi Extraktionssystem B-811 ist es möglich, zwischen vier verschiedenen Extraktionsmethoden, wie Soxhlet Standard (Methode 1), Soxhlet Warm (Methode 2), Heißextraktion (Methode 3) und einer kontinuierlichen Extraktion (Methode 4), zu wählen und vier Proben simultan zu extrahieren. Für die Optimierung wurden als Lösungsmittel n-Hexan und Petrolether verwendet, und drei Stunden sowie sechs Stunden lang extrahiert. Der Versuchsplan enthält 64 Extraktionen. Es wurden für eine Extraktion 8 g gemahlene Kürbiskerne eingewogen (Joebstl et al., 2007; Joebstl et al., 2010).

In der Abbildung 7 werden die verschiedenen SEE Muster der Öle von den Kernen aus LVA Wies und SZ Gleisdorf gezeigt. Es ist ersichtlich, dass sich die Muster unterscheiden, und dass das Lösungsmittel einen Einfluss auf die Extraktionseffizienz hat. Es wur-

de festgestellt, dass das Lösungsmittel keinen Einfluss auf die Muster nimmt, denn, obwohl zwei verschiedene Lösungsmittel verwendet wurden, sind die Charakteristika der Muster der Ölen derselben Herkunft ähnlich, nur die Konzentrationen der SEE sind in mit n-Hexan extrahierten Ölen höher, als in jenen mit Petrolether.

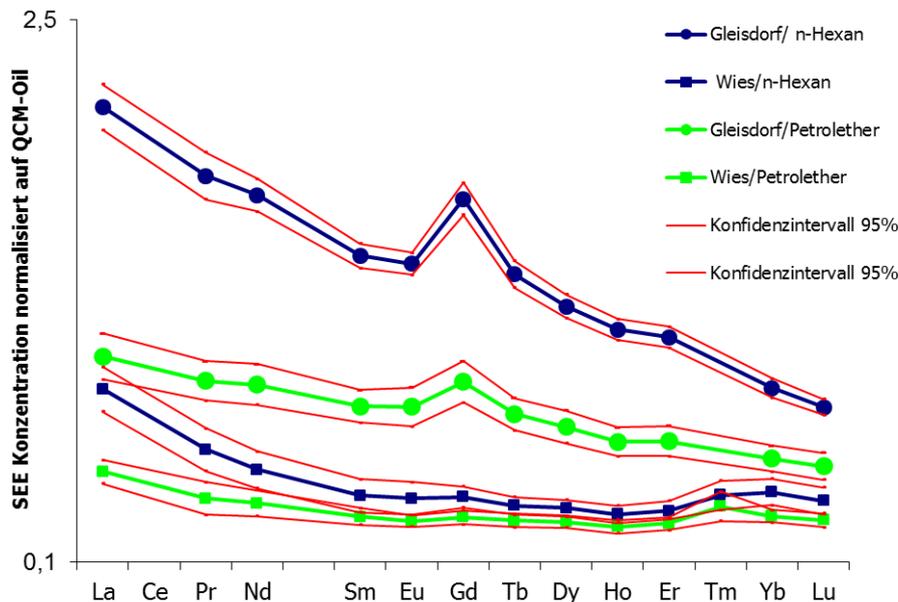


Abbildung 7: Vergleich der SEE Verteilung in Kürbiskernölen unterschiedlicher Herkunft (SZ Gleisdorf und LVA Wies), extrahiert mit zwei unterschiedlichen Lösungsmitteln (n-Hexan und Petrolether). SEE Konzentrationen sind normalisiert auf QCM-Öl. Konvidenzintervalle mit Signifikanzniveau von 95% (n=16) (Joebstl et al., 2007; Joebstl et al., 2010).

Abbildung 8 zeigt den Main Effekt Plot und den Pareto Chart für die SEE. Im Pareto Chart ist ersichtlich, dass das Lösungsmittel den größten Einfluss auf die Seltene Erdkonzentration hat. Die anderen zwei Parameter, Zeit und die vier verschiedenen Methoden der Extraktion, zeigten keinen signifikanten Einfluss.

In Abbildung 8 zeigt der Main Effekt Plot, dass das Extraktionsoptimum der SEE Konzentrationen aus den gemahlen Kürbiskernen mit dem Soxhlet Standard Programm mit n-Hexan als Lösungsmittel bei sechs Stunden ist. Da die Zeit keinen signifikanten Ein-

fluss (siehe Pareto Chart) hat, wurde entschieden, drei Stunden zu extrahieren um Zeit zu sparen.

Im Zuge dieses Optimierungsversuches wurde festgestellt, dass die Ölausbeute und der SEE Gehalt der Kürbiskerne nicht korrelieren.

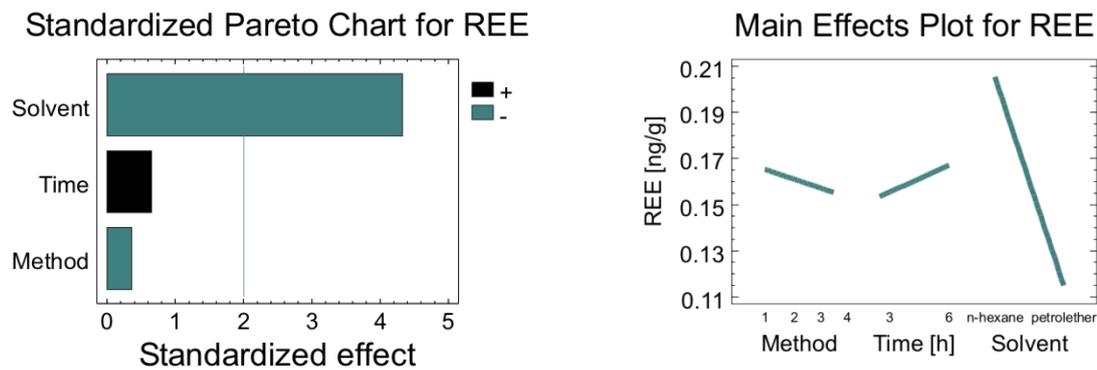


Abbildung 8: Main Effekt Plot und Pareto Chart (Joebstl et al., 2007)

Aufgrund des Optimierungsprozesses ergibt sich folgendes Routineverfahren zur Extraktion der SEE aus Kürbiskernen im Labor:

15,00 g der gemahlene Kürbiskerne werden in die Extraktionshülsen direkt eingewogen und mit Glaswolle verschlossen. Die Extraktionshülsen (33 x 94 mm, Schleicher & Schuell GmbH, Deutschland) werden in das Büchi Extraktionssystem B-811 eingesetzt und mit der Soxhlet Standard Extraktionsmethode für 3 Stunden mit 150 ml n-Hexan (99 g/100g p.a., Roth, Karlsruhe, Deutschland) als Lösungsmittel extrahiert.

6.3.1.2 Säure Aufschluss der extrahierten Ölproben

Um einen vollständigen Aufschluss des organischen Materials sicherzustellen, wurde der Hochdruckverascher (HPA-S, Anton Paar, Graz) verwendet. Ein sehr großer Vorteil des HPA-S Aufschlusses ist ein hoher Einsatz von ca. 1 g organikreicher Probemenge, im

Vergleich zu Mikrowellenaufschlüssen. Dies ist von großer Bedeutung, da pflanzliche Öle eine sehr große organische Matrix enthalten, und der Gehalt an SEE sehr gering ist.

Bevor die extrahierten Kürbiskernöle aufgeschlossen werden, müssen sie mit einem Vortex-Gerät homogenisiert werden. Das HPA-S besteht aus einem Stahl Autoklaven, in dem fünf (90 ml) oder sieben (50 ml) Quarzglasgefäße Platz finden. 1 g extrahiertes Kürbiskernöl wird direkt in ein 90 ml Quarzglasgefäß eingewogen und 10 ml konzentrierte HNO_3 subboiled zugegeben. Das Quarzglasgefäß wird mit Teflonband verschlossen und mit einem Quarzglasdeckel zugedeckt, welcher mit Teflonband fixiert wird. Die Proben werden im HPA-S 30 min auf 280 °C, bei einem Druck von 100 bar, aufgeheizt. Bei 280 °C wird die Temperatur 90 min bei ca. 125 bar gehalten. Ist die aufgeschlossene Lösung nach Ende des Aufschlusses auf Raumtemperatur abgekühlt, wird sie quantitativ in ein 20 ml PFA-Vial (Savillex, Minnetonka, Minnesota, USA) überführt. Die Quarzglasgefäße werden mit ultra-reinem Wasser gespült und dieses ebenfalls der Probelösung zugegeben. Die Probelösung wird anschließend auf einer Heizplatte erhitzt (ca. 70 °C) und bis zur Trockene eingedampft. Die trockenen Kürbiskernölproben werden mit 2 ml 1 g/100 ml HNO_3 gelöst. Anschließend werden 100 µl einer 100 ng/ml Internen Standardlösung von In und Re zugesetzt. Die Lösung wird anschließend in ein Polystyren Gefäß zur Messung mit dem ICP-MS überführt (Joebstl et al., 2010).

Neben den extrahierten Kürbiskernölen wurden auch Kürbiskerne und Apple Leaves NIST SRM 1515 mit der gleichen Methode aufgeschlossen. Einzig die Einwaage ändert sich, für Kürbiskerne werden 0,5 g und für Apple Leaves NIST SRM 1515 0,15 g eingewogen.

6.3.2 Messung der Spurenelementkonzentration im Kürbiskernöl mittels ICP-MS

Die Messung der Kürbiskernölproben erfolgte zu Beginn des Projektes manuell, mit einem Quadrupol ICP-MS HP4500. Nach Anschaffung des ICP-MS System von Agilent

Technologies 7500 ce wurde auf dieses umgestellt. Zur Verbesserung der Präzision und der Richtigkeit und, um die Methode als Routinemethode einsetzen zu können, sollte die Messung der Spurenelemente im Kürbiskernöl automatisiert werden. Um dies zu erreichen, wurde eine spezielle Zerstäuberkammer mit Verdampfungs- und Kondensationseinheit (APEX, Fa. ESI) eingesetzt. Hierdurch wurden eine Reduktion der Oxidbildungsrate und eine Erhöhung der Intensitäten um das Zehnfache erreicht. Der Einsatz des APEX ermöglichte die Automatisierung der ICP-MS Messung. Durch die Steigerung der Empfindlichkeit und Präzision der Analyse, bot sich die Möglichkeit, die Proben von 2 ml Totalvolumen auf 5 ml Totalvolumen stärker zu verdünnen. Da die Konzentrationen der Seltenen Erden und anderer Elementspuren in Kürbiskernölen sehr gering sind, und teilweise im Ultraspurenbereich ($< 1 \text{ ng/ml}$) liegen, war die Verdünnung der Proben limitiert, sodass eine Messung mit einem Probengeber nicht möglich war. Die Messung mit APEX System ist empfindlich genug, um höher verdünnte Proben messen zu können. Durch die Möglichkeit einer Verdünnung konnte der vorhandene Standard-Probengeber eingesetzt werden. Wichtig bei der Verwendung des APEX Systems ist es, die Standardlösungen zum Schluss zu analysieren, da im Ultraspurenbereich gemessen wird und es sonst zu einem Memoryeffekt kommen kann. Memoryeffekte entstehen durch Lösungsrückstände in der Zerstäuberkammer und durch Ablagerungen auf den Konen. Um Memoryeffekte zu vermeiden muss während den Messungen gespült werden, damit das Signal der alten Proben weitgehendst abklingen kann.

Die Oxidbildungsrate (CeO^+/Ce^+) im Plasma ist 0,2 bis 0,3 % mit dem ICP-MS System von Agilent Technologies 7500 ce mit APEX-System und Autosampler.

Das (CeO^+/Ce^+) Verhältnis wird oft als Maß für ein robustes Plasma in der ICP-MS bezeichnet. Die Oxidbildung (MO^+) gehört zu den spektroskopischen Interferenzen, welche durch Verbindungen oder Elemente verursacht wird, die das Massenspektrometer erreichen und das gleiche Masse/Ladungsverhältnis wie die Isotopen des Analyten haben. Das Element Ce diente aufgrund seiner Bereitschaft Oxide auszubilden als Indikator-Element für die Beobachtung von der Oxidrate. Die Oxidenrate sollte möglichst unter 1% gehalten werden und wird vor Beginn der eigentlichen Messung mit Hilfe der

Tuning-Lösung (enthält Ce) eingestellt. Durch Feinabstimmung von Zerstäubergasfluss, Hochfrequenzspannung und Probennahmeposition im Plasma kann die Oxidbildung minimiert werden. Neben den Oxid Interferenzen gibt es noch Interferenzen der doppelt geladenen Elemente (M^{2+}), diese sind aber nicht so problematisch, da es nur wenige Elemente gibt die große Mengen und doppelt geladenen Elementen bilden und diese leichter vermieden werden können. Es ist auch nachgewiesen, dass die Oxidbildung direkt proportional zu anderen matrixbasierenden Interferenzen (die in einer Chlorid- und Sulfatmatrix entstehen) ist.

6.3.2.1 Messprinzip

Die einzelnen Seltenen Erden und Spurenelemente werden bei einer Messung nahezu simultan analysiert. Durch externe Kalibrierung und mit Hilfe interner Standards erfolgt eine Quantifizierung. Die Elemente der SEE kommen im Kürbiskernöl im Ultraspurenbereich vor. Bei den Elementen die sich aus mehreren Isotopen zusammensetzen, werden zwei Isotope gemessen, um Störungen zu bemerken. Die Elemente Y, Pr, Tb, Ho, Tm sind monoisotop. Die Isotope ^{139}La und ^{175}Lu kommen mit einer Häufigkeit von 99,91 % bzw. 97,4 % vor, und werden deshalb nur durch diese Isotope quantifiziert. In der Tabelle 3 sind die gemessenen Isotope der Elementgruppe der Seltenen Erden, der Spurenelemente und der Internen Standards zusammengefasst. Die Elemente Ca, Cr, Ni, Cu, Zn werden mit He-Gas gemessen, alle anderen Elemente werden ohne He Gas gemessen.

He wird als Gas in der Kollisionszelle verwendet, diese Technologie wird in den letzten Jahren immer häufiger zur Minimierung der spektralen Interferenzen (matrixabhängigen Interferenzen z.B. $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^+$ auf $^{52}\text{Cr}^+$, $^{23}\text{Na}^{40}\text{Ar}^+$ auf $^{63}\text{Cu}^+$ und plasmaabhängige Interferenzen z.B. $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$, $^{40}\text{Ar}^{38}\text{Ar}^+$) benutzt. Die Kollisionszelle, bestehend aus einem Multipol (Oktopol), ist vor dem Massenseparator angeordnet. Das am Multipol anliegende Hochfrequenzfeld sorgt für eine Fokussierung der Ionen. Die dadurch gebündelten Ionen treffen dann auf die Moleküle des Kollisionsgases. Die polyatomischen Interferen-

zen werden mit inertem He-Gas nicht durch eine Reaktion beseitigt sondern durch eine Kollision. Die polyatomischen Interferenzen sind größer als die Analyten mit denen sie interferieren, deshalb kommt es schneller zu einer Kollision mit ihnen als mit den viel kleineren Analytionen. Die polyatomischen Ionen verlieren deshalb mehr Energie und der ergebende Energiewert für die Ionen ist dann gleich oder geringer der Energie der Zellvorspannung. Die Kollisionszellenvorspannung wird etwas weniger positiv als die Massenfiltervorspannung eingestellt. Hierdurch werden die Ionen gestoppt und gelangen nicht in den Massenanalysator.

Tabelle 3: Isotope die mit dem ICP-MS detektiert werden.

	Isotope
Seltene Erden	^{89}Y , ^{139}La , ^{140}Ce , ^{141}Pr , ^{145}Nd , ^{146}Nd , ^{147}Sm , ^{149}Sm , ^{151}Eu , ^{153}Eu , ^{159}Tb , ^{157}Gd , ^{160}Gd , ^{161}Dy , ^{163}Dy , ^{165}Ho , ^{166}Er , ^{167}Er , ^{169}Tm , ^{172}Yb , ^{173}Yb , ^{175}Lu
Spurenelemente	^{24}Mg ^{43}Ca , ^{52}Cr , ^{53}Cr , ^{56}Fe , ^{57}Fe , ^{60}Ni , ^{63}Cu , ^{65}Cu , ^{66}Zn , ^{68}Zn , ^{85}Rb , ^{88}Sr , ^{137}Ba , ^{208}Pb , ^{232}Th , ^{238}U
Interne Standards	^{115}In , ^{185}Re , ^{74}Ge

6.3.2.2 Kalibrierung, Probenverdünnung

Die Konzentration der SEE ist in den Pflanzen nicht gleichmäßig verteilt. Die Konzentration der leichten SEE ist höher, als die der schweren SEE. Um Memory Effekten durch die Kalibrierlösung vorzubeugen, wird eine Kalibrierlösung mit optimiertem Konzentrationsbereich erstellt. Die externe Kalibrierung erfolgt mit der optimierten SEE Standardlösung AHF-CAL-7 (Inorganic Ventures, New Jersey, USA): 1000 µg/ml Ce, 500 µg/ml La, Nd, Y, 100 µg/ml Pr, 150 µg/ml Th, 50 µg/ml Dy, Gd, Sm, U, 20 µg/ml Er, Eu, Yb, 10 µg/ml Ho, Tb und 5 µg/ml Lu, Tm. Eine 50 ng/ml Stammlösung (berechnet für La, Nd, Y) wurde hergestellt und mit 1 g/100 ml HNO₃ verdünnt im Kalibrierbereich 0 bis 10

ng/ml (basiert auf La). Für die weiteren Spurenelemente wird eine 40 ng/ml Stammlösung für Ba, Cr, Cu, Mg, Ni, Pb, Rb, Sr, U, 400 ng/ml für Fe, und Zn, und 4000 ng/ml für Ca vom ICP Multielementstandardlösung VI (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) in 1g/100 ml HNO₃ für die Kalibration verwendet.

Die Kalibrierlösungen wurden mit einer programmierbaren Eppendorfpipette hergestellt. Die aufgeschlossenen und eingetrockneten Kürbiskernölproben werden mit 1 g/100 ml HNO₃ auf ein Totalvolumen von 2 oder 5 ml verdünnt und danach 100 µl einer 100 ng/ml Internen Standardlösung von In und Re und 50 µl einer 100 ng/ml Internen Standardlösung von Ge zugesetzt. Demnach folgt eine Endverdünnung der aufgeschlossenen Kürbiskernölproben von 1:2,15 bzw. 1:5,15.

Neben den Kürbiskernölproben wurden die Spurenelementgehalte auch für Kürbiskerne, Kürbisblätter, Apfelblätter, Kürbisfruchtfleisch und Ölextraktionskuchen mit der gleichen ICP-MS Methode wie für Kürbiskernöle bestimmt. Dazu wurden die Proben der Kürbis- und Apfelblätter nach dem Aufschluss auf ein Totalvolumen von 50 ml mit 1g/100 ml HNO₃ verdünnt und anschließend nochmal 1+2 (v/v) mit HNO₃. Die Kürbisfruchtfleisch- und Ölextraktionskuchenproben wurden nach dem Mikrowellenaufschluss direkt mit ultra-reinem Wasser auf 50 ml verdünnt. 100 µl von 100 ng/mL In und Re als interner Standard wurden zu 20 ml von jeder dieser Probelösungen zugegeben.

7 Validierung der Messung der Spurenelementkonzentration im Kürbiskernöl mittels ICP-MS

Teile die in Kapitel 7 "Validierung der Messung der Spurenelementkonzentration im Kürbiskernöl mittels ICP-MS" beschrieben werden, wurden bereits in Identification of the geographical origin of pumpkin seed oil by the use of rare earth elements and discriminant analysis (Joebstl et al., 2010), Suitability of elemental fingerprinting for assessing the geographic origin of pumpkin (*Curcubita pepo* var. *Styriaca*) seed oil

(Bandoniene et al., 2013) sowie in Identifizierung der geographischen Herkunft von Kürbiskernölen (Joebstl et al., 2008) publiziert.

Da der Hauptanteil von Pflanzensamen und pflanzlichen Ölen aus organischem Anteil besteht, ist, im Vergleich zum Boden, der Spurenelementanteil sehr klein (Castillo et al., 1999; Giaccio et al., 1993). Somit ist auch eine Bestimmung der Elementspurenkonzentrationen, vor allem in Pflanzen, oft kleiner 0,1 ng/g, mit einer kleinen Messunsicherheit eine analytische Herausforderung.

Zur Qualitätskontrolle und zur Absicherung der Messungen und Ergebnisse wurden eine Reihe von selbst hergestellten in house Referenzmaterialien und zertifizierte Referenzmaterialien verwendet, welche nachfolgend aufgelistet werden.

- **Quality Control Material Öl (QCM-Oil)**

Das QCM-Oil wird einerseits zur Qualitätssicherung und andererseits zur Normierung der SEE-Gehalte der Kürbiskernöle verwendet. Um die SEE Patterns besser miteinander vergleichen zu können und Unterschiede zu erkennen, werden in der Geochemie alle SEE-Gehalte auf SEE-Gehalte von Chondriten bezogen. Werden SEE Gehalte von Kürbiskernölen auf Chondriten normiert, sind wegen des hohen LSEE/SSEE Verhältnisses (LSEE: leichte Seltene Erden, Elemente von La - Eu; SSEE: schwere Seltene Erden, Elemente von Gd - Lu) keine Unterschiede mehr erkennbar. Deswegen sind alle normalisierten SEE-Werte von Kürbiskernöl, die in der folgenden Arbeit angegeben werden, auf QCM-Oil normalisiert, um Unterschiede der SEE-Patterns der Kürbiskernöle besser zu erkennen. QCM-Oil ist eine selbst hergestellte Mischung aus gepresstem Öl verschiedener Ölmühlen der Steiermark, mit einer Standardabweichung von 11 Verfahrenswiederholungen (siehe Tabelle 4).

- **Quality Control Material Boden (QCM-Soil)**

Zur laufenden Überprüfung der Bodenmessungen fungierte das in-house Referenzmaterial QCM-Soil vom Versuchsfeld Gleisdorf (Feld 1). Die Mittelwerte der SEE für QCM-Soil sind in Tabelle 4 zusammengefasst. Die Daten wurden über

zwei Jahre gesammelt und die Standardabweichung der 62 Verfahrenswiederholungen sind in Tabelle 4 angegeben.

- **In house Referenzkürbiskerne (RMKK)**

Von einer Ernte eines Feldes der Familie Haresleb in Niederösterreich, wurde eine 5 kg Kürbiskernprobe genommen. Diese sind die In house Referenzkürbiskerne und dienen auch zur Erstellung einer Regelkarte, welche zur Kontrolle der Methode für die SEE für extrahiertes ÖL verwendet wurde.

- **In house Referenzkürbiskernöl (RMÖL)**

Zur Erstellung der Regelkarte zur Kontrolle der Methode für die SEE für gepresstes Öl wurde Kürbiskernöl der Probe 15088 Wettmannstätten, welches in einer Ölmühle gepresst wurde, verwendet.

Zur Überprüfung der Richtigkeit der gesamten Analyse (Aufschluss bis Messung) wurden zwei zertifizierte Referenzmaterialien GBW 07403 (NCSDC73321 National Research Centre for Certified Reference Materials, Beijing, China) für Bodenproben (Tabelle 4) und Apple Leaves NIST SRM 1515 (100mg, NIST SRM1515, Gaithersburg, Maryland, USA), für pflanzliche Matrix, analysiert. Die Konzentrationen der SEE des zertifizierten Bodenreferenzmaterials GBW 07403 sind in Tabelle 4 ersichtlich. In Tabelle 5 sind die Gehalte der gemessenen Elemente des Apple Leaves NIST SRM 1515 Referenzmaterials in $\mu\text{g/g}$ angegeben. Die Werte wurden mit NIST Werten und publizierten Werten verglichen, wobei eine gute Übereinstimmung gefunden wurde (Ariyama et al., 2003; Freitas, 1993; Kučera et al., 2007). Es ist zu berücksichtigen, dass der Konzentrationsbereich der Apple Leaves NIST SRM 1515, höher als für Kürbiskernöle ist, und dass die Konzentrationswerte für SEE, Cr, Th und U nicht zertifiziert sind.

In Tabelle 4 sind der Mittelwert und die Standardabweichung (SD) der SEE des GBW 07403 Referenzmaterials in $\mu\text{g/g}$, bestehend aus drei Wiederholungen, angegeben. Diese Werte korrelieren sehr gut mit den zertifizierten Werten, die ebenfalls in der Tabelle 4 ersichtlich sind.

Tabelle 4: Mittelwert der SEE Konzentrationen in $\mu\text{g/g}$ sowie die Standardabweichung (SD) von GBW 07403, QCM-Soil und QCM-Oil (in Supplementary Data (Bandoniene et al., 2013)).

Element	GBW 07403			QCM-Soil		QCM-Oil	
	n=3			n=62		n=11	
	$\mu\text{g g}^{-1}$	SD	$\mu\text{g g}^{-1*}$	$\mu\text{g g}^{-1}$	SD	ng g^{-1}	SD
La	21,2	0,4	21	37,3	7,8	0,913	0,184
Ce	41,3	0,6	39	75,7	15,8	0,787	0,183
Pr	4,88	0,12	4,8	8,69	1,8	0,137	0,031
Nd	17,9	0,4	18,4	33,4	6,9	0,506	0,112
Sm	3,38	0,07	3,3	6,48	1,34	0,097	0,026
Eu	0,739	0,004	0,72	1,34	0,27	0,022	0,007
Gd	2,83	0,03	2,9	5,67	1,13	0,108	0,028
Tb	0,447	0,012	0,49	0,885	0,176	0,014	0,005
Dy	2,72	0,04	2,6	5,32	1,06	0,075	0,018
Ho	0,554	0,004	0,53	1,07	0,21	0,015	0,005
Er	1,66	0,02	1,5	3,11	0,63	0,035	0,010
Tm	0,256	0,004	0,28	0,463	0,093	0,004	0,003
Yb	1,69	0,02	1,68	2,95	0,59	0,024	0,009
Lu	0,266	0,004	0,29	0,442	0,089	0,004	0,002

* Daten von der GeoReM Datenbank

Ebenfalls in Tabelle 4 sind der Durchschnitt und die Standardabweichung der SEE von QCM-Soil, bestehend aus 62 Wiederholungen und QCM-Oil bestehend aus elf Wiederholungen aufgelistet. Auch das Balkendiagramm in Abbildung 5 zeigt die Variation der Konzentration der SEE von QCM-Oil. Ein wichtiges Merkmal des QCM-Oil Pattern ist die negative Ce-Anomalie, diese ist normalerweise für Sedimente typisch, die unter oxidierenden Bedingungen während der Sedimentation geformt werden. Eine ausgeprägte Ce-Anomalie gegenüber typischen Boden, Condrüten oder Kürbiskernöl ist auch in Apple Leaves NIST 1515 sichtbar. Es gibt auch Kürbiskernöle welche eine positive Ce-Anomalie

zeigen, somit scheint sie eine intrinsische Eigenschaft von pflanzlichem Material zu sein und keinen Bezug auf jenen Boden zu haben, auf welchem es kultiviert wurde.

Weiters ist in Tabelle 5 der Konzentrationsbereich der während dieser Arbeit gemessenen Elemente, von 305 österreichischen, 505 russischen und 68 chinesischen, extrahierten Kürbiskernölen wiedergegeben. Es wird der Median, das Minimum (MIN) und das Maximum (MAX) der Elementspuren der extrahierten Kürbiskernöle, basierend auf dreifachem Aufschluss, mit Messung bestimmt. Die Nachweisgrenze (LOD) und die Bestimmungsgrenze (LOQ), wurde aus fünfzehn Verfahrensblanks (TPB-Oil), die während dieser Arbeit an verschiedenen Tagen bestimmt wurden, berechnet. Wobei sich LOD aus 3 mal Standardabweichung und LOQ aus 10 mal die Standardabweichung der 15 TPB-Oil Blanks ergibt. In der Tabelle 5 ist ersichtlich, dass extrem kleine Werte der SEE nahe LOQ, vor allem für Ce und Lu, gefunden wurden. Der Median und das Minimum für Cr ist unter LOQ und LOD für Österreich und China für Russland liegt nur das Minimum unter LOQ und LOD. Auch das Minimum von Ni für Österreich ist kleiner LOQ, das von China und Russland ist gleich LOD und der Median für Ni von China und Russland ist kleiner LOQ. Aufgrund dieser Tatsache wurden die Elemente Cr und Ni nicht für die Klassifizierung verwendet. Die Tabelle 5 spiegelt aber auch die signifikanten Unterschiede der Konzentrationsbereiche einiger Elemente zwischen den Kürbiskernölen unterschiedlicher geographischer Herkunft wieder.

Im Zuge der Validierung des Verfahrens, wurde für alle SEE für RMKK eine Shewhart Regelkarte (ISO 8258) basierend auf Einzelwerten und für die SEE von RMÖL eine Mittelwertregelkarte erstellt.

Als Beispiel für eine Regelkarte aus Einzelwerten ist in Abbildung 9 die Regelkarte für RMKK für das Element La dargestellt. In der Regelkarte in Abbildung 9 ist auf der y-Achse die Konzentration von La normiert auf QCM-Oil aufgetragen und auf der x-Achse die 23 Stichproben die an unterschiedlichen Tagen extrahiert, aufgeschlossen und analysiert wurden. Weiters ist die Zentrallinie (Mittelwert der 23 Einzelnen La Werte) sowie die Obere und die Untere Kontrollgrenze dargestellt. Die Obere Kontrollgrenze (OKG)

und die Untere Kontrollgrenze (UKG) ergeben sich für die Regelkarte aus Einzelwerten aus folgenden Formeln:

$$OKG = \bar{X} + \left(\frac{3}{d_2}\right) * \bar{R}$$

$$UKG = \bar{X} - \left(\frac{3}{d_2}\right) * \bar{R}$$

- \bar{X} Mittelwert der Einzelwerte
- d_2 1,128 (n=2) Faktor zur Berechnung der Linien für Kontrollkarten (Wegscheider, 2008)
- \bar{R} Mittelwert der Spannweiten (Distanz zwischen 2 Stichproben)

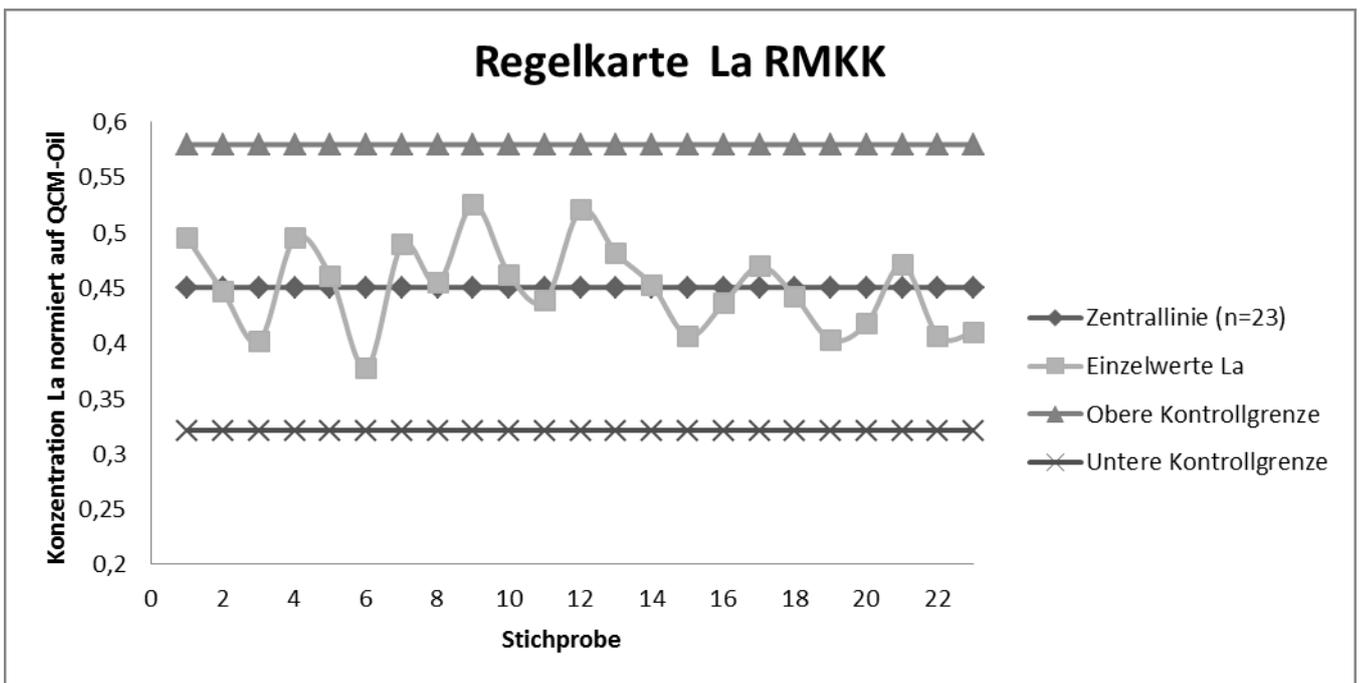


Abbildung 9: Regelkarte aus Einzelwerten für RMKK für das Element La

Als Beispiel für eine Mittelwertkarte ist in Abbildung 10 die Regelkarte für La von RMÖL dargestellt. In der Regelkarte in Abbildung 10 ist auf der y-Achse die Konzentration von La normiert auf QCM-Oil aufgetragen und auf der x-Achse die 20 Mittelwerte, wobei

sich ein Mittelwert aus 2 Aufschlüssen desselben Tages bildet. Weiters ist die Zentrallinie, Mittelwert dieser 20 Mittelwerte, sowie die Obere und die Untere Kontrollgrenze dargestellt. Die Obere Kontrollgrenze (OKG) und die Untere Kontrollgrenze (UKG) ergeben sich für die Regelkarte aus Mittelwerten aus folgenden Formeln:

$$OKG = \bar{\bar{X}} + A_2 * \bar{R}$$

$$UKG = \bar{\bar{X}} - A_2 * \bar{R}$$

- $\bar{\bar{X}}$ Mittelwert der Mittelwerte
- A_2 1,88 (n= 2) Faktor zur Berechnung der Linien für Kontrollkarten (Wegscheider, 2008)
- \bar{R} Mittelwert der Spannweiten (Distanz zwischen 2 Stichproben)

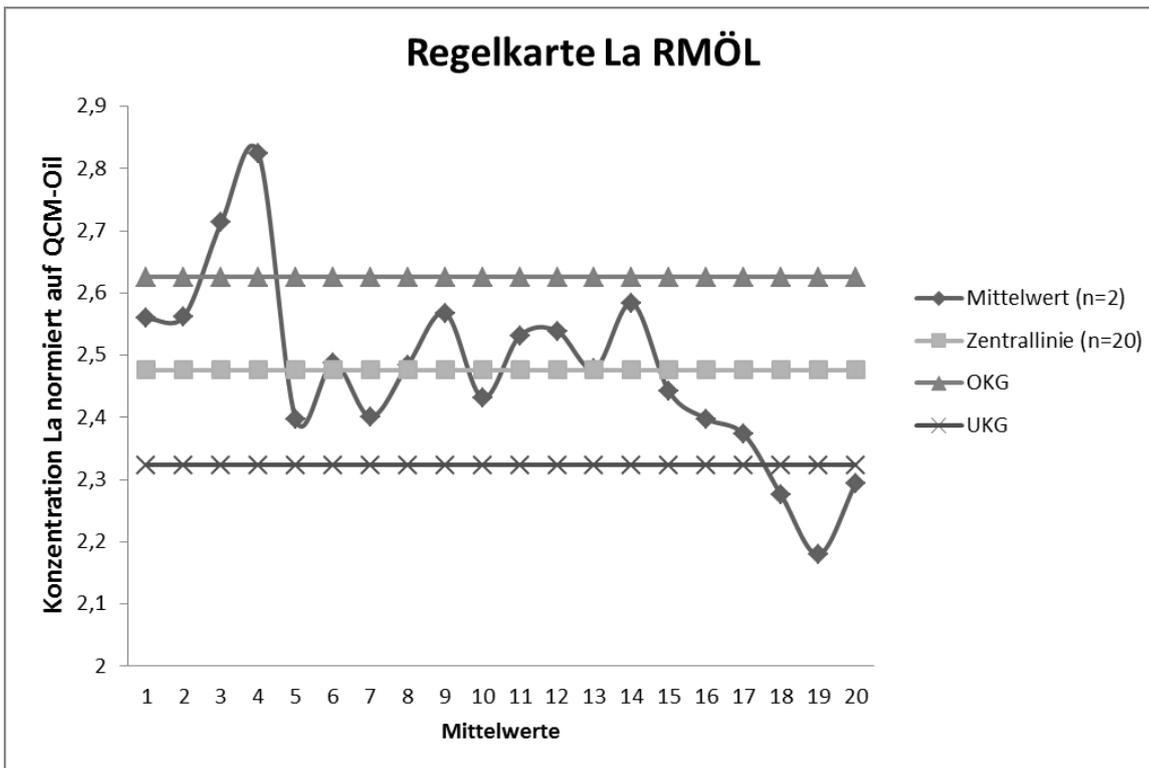


Abbildung 10: Mittelwertregelkarte für RMÖL für das Element La

RMKK und RMÖL werden regelmäßig analysiert und mit der Regelkarte verglichen, um sicher zu stellen, dass die Methode unter Kontrolle bleibt, um etwaige Abweichungen

sofort zu detektieren und darauf angemessen zu reagieren (kontinuierliche Qualitätskontrolle).

Wie in Abbildung 10 ersichtlich, übersteigen die Mittelwerte 3 und 4 die Obere Kontrollgrenze und die Mittelwerte 18, 19 und 20 die Untere Kontrollgrenze, dies ist auf eine unsachgemäße, zu kurze, Homogenisierung von RMÖL, bei der Einwaage, zurückzuführen.

Zur Zusammenfassung und um eine bessere Übersicht zu haben wurden die einzelnen Regelkarten jedes Elements für RMÖL und RMKK in einem sogenannten Kontrollmuster für RMÖL und RMKK dargestellt. In Abbildung 11 sind die Kontrollmuster der normierten SEE Konzentrationen von RMKK und RMÖL basierend auf den Daten aus den einzelnen Regelkarten der SEE ersichtlich.

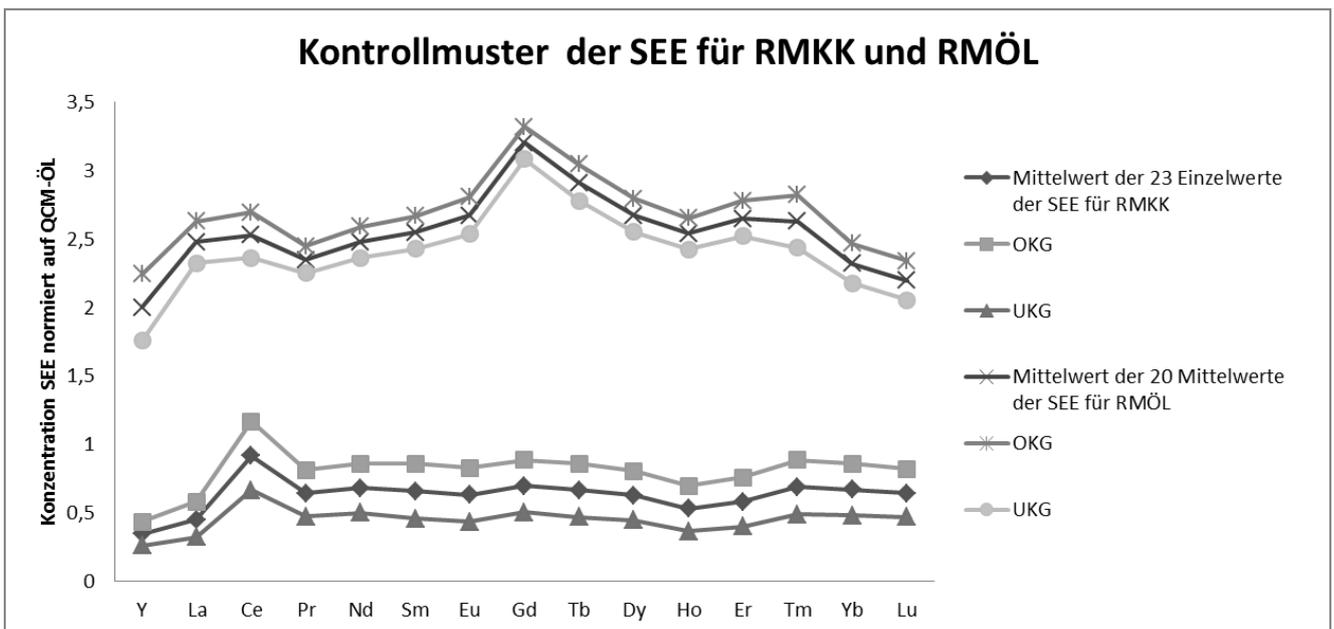


Abbildung 11: Kontrollmuster der SEE für RMKK und RMÖL

Tabelle 5: Zusammenfassung der Konzentrationen der gemessenen Elemente von extrahiertem Kürbiskernöl, Apple Leaves sowie LOD und LOQ (Bando-niense et al. 2013)

Analyt	Kürbiskernöl									Apple Leaves NIST SRM 1515						LOD	LOQ	
	Österreich n=305			Russland n=109			China n=68							n=15	n=15			
	Median [µg g ⁻¹]	MIN [µg g ⁻¹]	MAX [µg g ⁻¹]	Median [µg g ⁻¹]	MIN [µg g ⁻¹]	MAX [µg g ⁻¹]	Median [µg g ⁻¹]	MIN [µg g ⁻¹]	MAX [µg g ⁻¹]	µg g ⁻¹	CI **	n	µg g ⁻¹ *	CI **	µg g ⁻¹	µg g ⁻¹		
Mg	24.5	3.02	95.0	48.1	11.9	141	42.8	9.82	106	2597	565	8	2710	80	0.406	1.35		
Ca	8.13	1.89	75.3	39.7	5.61	318	42.1	10.9	185	14792	1374	8	15260	150	0.50	1.65		
Cr	(0.009)	(0.001)	0.118	(0.017)	(0.001)	0.395	(0.007)	(0.001)	0.046	0.5	0.33	8	<i>0.3</i>		0.011	0.037		
Fe	0.63	(0.20)	16.6	0.92	(0.26)	3.71	0.77	(0.15)	2.47	94	15	4	83	5	0.15	0.51		
Cu	0.31	0.048	1.37	0.41	0.058	1.39	0.34	0.038	1.67	5.64	0.55	8	5.64	0.24	0.006	0.021		
Zn	0.3	(0.083)	1.54	0.83	0.284	3.27	0.61	0.291	1.97	13.8	2.8	7	12.5	0.3	0.083	0.278		
	Median [ng g ⁻¹]	MIN [ng g ⁻¹]	MAX [ng g ⁻¹]	Median [ng g ⁻¹]	MIN [ng g ⁻¹]	MAX [ng g ⁻¹]	Median [ng g ⁻¹]	MIN [ng g ⁻¹]	MAX [ng g ⁻¹]	µg g ⁻¹	CI **	n	µg g ⁻¹ *	CI **	µg g ⁻¹ ***	u	ng g ⁻¹	ng g ⁻¹
Ni	6.4	(2.1)	120.3	(6.0)	(1.9)	145	(4.2)	(1.9)	44.5	1.00	0.18	8	0.91	0.12			1.9	6.2
Rb	3.3	0.7	26.9	12.6	2.4	67.7	12.6	1.3	39.6	10.3	1.1	8	10.2	1.5			0.161	0.535
Sr	6.6	(2.0)	66.7	113	10.8	733	416	49.8	1938	26.6	2.1	8	25	2			1.2	3.9
Y	0.396	0.077	2.03	0.302	0.138	0.846	1.12	0.213	3.16	10.4	0.4	8					0.021	0.070
Ba	8.9	(2.6)	96.7	21.7	(8.1)	247.4	53.0	10.7	3026	49.9	2.7	8	49	2			2.5	8.3
La	0.535	0.095	3.66	0.380	0.220	1.76	1.64	0.275	5.32	20.3	0.6	11	<i>20</i>		19.20	0.10	0.026	0.087
Ce	0.769	(0.154)	5.49	0.76	(0.26)	7.72	3.33	0.654	11.49	3.11	0.10	11	<i>3.1</i>		3.04	0.04	0.131	0.436
Pr	0.098	0.017	0.579	0.083	0.039	0.265	0.359	0.063	1.21	4.07	0.10	11	<i>4.17</i>				0.0045	0.015
Nd	0.392	0.066	2.31	0.338	0.158	0.914	1.42	0.286	4.94	15.8	0.9	11	<i>17</i>		16.3	0.5	0.018	0.059
Sm	0.082	0.013	0.449	0.070	0.032	0.190	0.281	0.054	0.929	2.82	0.08	11	<i>3</i>		3.06	0.02	0.0028	0.009
Eu	0.019	0.0040	0.135	0.017	0.007	0.049	0.063	0.012	0.363	0.255	0.008	11	<i>0.2</i>		0.251	0.003	0.0011	0.0036
Gd	0.076	0.012	0.410	0.066	0.030	0.178	0.261	0.054	0.810	2.84	0.07	11	<i>3</i>		2.68	0.07	0.0034	0.011
Tb	0.011	0.003	0.065	0.009	0.004	0.025	0.037	0.007	0.166	0.354	0.013	11	<i>0.4</i>		0.34	0.003	0.0006	0.0020
Dy	0.060	0.019	0.323	0.050	0.025	0.145	0.202	0.047	0.626	1.73	0.05	11					0.0034	0.011
Ho	0.011	0.003	0.076	0.010	0.004	0.029	0.038	0.009	0.113	0.284	0.009	11	<i>0.319</i>		0.380	0.014	0.0005	0.002
Er	0.028	0.005	0.186	0.025	0.010	0.074	0.098	0.025	0.281	0.565	0.018	11	<i><0.17</i>				0.0013	0.0042
Tm	0.004	0.0014	0.020	0.003	0.0013	0.011	0.012	0.003	0.036	0.0500	0.0024	11	<i>0.057</i>		0.051	0.005	0.0002	0.0008
Yb	0.021	0.006	0.125	0.019	0.008	0.066	0.073	0.021	0.207	0.189	0.007	11	<i>0.3</i>		0.200	0.006	0.0015	0.0050
Lu	0.003	(0.0005)	0.018	0.003	0.002	0.010	0.010	0.002	0.030	0.020	0.002	11	<i>0.026</i>		0.020	0.003	0.0003	0.0008
Pb	(7.22)	(1.8)	40.9	14.24	(2.81)	69.9	13.72	(2.63)	119	0.42	0.05	8	0.470	0.024			2.3	7.6
Th	0.038	0.015	0.221	0.039	0.015	0.290	0.338	0.034	1.38	0.023	0.007	8	<i>0.03</i>				0.004	0.014
U	0.081	(0.015)	0.451	0.130	0.026	0.614	0.416	0.030	2.34	0.0073	0.0007	8	<i>0.006</i>				0.008	0.025

* zertifizierte Werte und nicht zertifizierte Werte (kursiv) vom Zertifikat und GeoReM Datenbank

**CI 95% Konfidenzintervall unter Berücksichtigung des Student t-Faktors.

***RNAAWerte (Mittelwert von 3 Wiederholungen ± kombinierte Unsicherheit) publiziert von (Kučera et al., 2007)

7.1 Messunsicherheit

„Der Leitfaden zur Angabe der Unsicherheit von Messungen“ (GUM, Guide to the expression of uncertainty, 1993) ist im Auftrag des Comité International des Poids et Mesures (CIPM) unter Beteiligung der Internationalen Organisation für Normung mit sechs weiteren Organisationen entstanden und stellt die grundlegende Anleitung zur Bestimmung der Messunsicherheit dar. Nach dem „Guide to the Expression of Uncertainty“ erfolgt die Schätzung aller Unsicherheitskomponenten auf der Grundlage einer Modellfunktion (EURACHEM/CITAC, 2004; GUM, 2008).

Für die chemische Analytik wurde diese Vorgehensweise in einem EURACHEM-Leitfaden spezifiziert, diesem liegt der Bottom-up-Ansatz zugrunde. In diesem Ansatz werden die zufälligen Messabweichungen jeder Komponente der Methode als Standardabweichung quantifiziert. Die gesamte Unsicherheit wird durch Summation der Quadrate der Komponenten der einzelnen Messabweichungen berechnet.

Eine alternative Methode stellt der Top-down-Ansatz dar. Dieser Ansatz ist mit den Grundprinzipien des GUM vereinbar. Bei diesem Ansatz, Nordtest, wird die Unsicherheit durch einen Vergleich mit zertifizierten Referenzmaterialien ermittelt (Magnusson et al., 2004).

Nach dem EURACHEM/CITAC Leitfaden (2004) lautet die Definition der Unsicherheit wie folgt: „Unsicherheit ist ein Parameter, assoziiert mit dem Ergebnis einer Messung, der die Streuung der Werte charakterisiert, die treffenderweise der Messgröße zugeordnet werden können.“

In dieser Arbeit wird die Messunsicherheit der Konzentrationsbestimmung von SEE in Kürbiskernölen mittels ICP-MS nach dem EURACHEM-Leitfaden und nach der Nordtest-Methode ermittelt und verglichen.

7.1.1 Beschreibung des Messverfahrens und der Messgröße zur Bestimmung der Konzentration von SEE in Kürbiskernöl

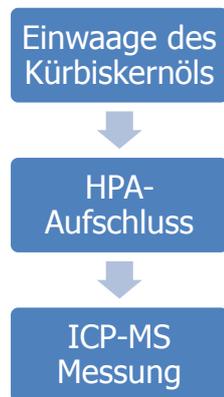


Abbildung 12: Analyse der SEE in Kürbiskernölen

Die einzelnen Verfahrensschritte, die nötig sind, um die Konzentration der SEE in Kürbiskernöl zu bestimmen, sind in Abbildung 12 skizziert und werden in 6.3 Methode zur Bestimmung der Konzentrationen von Spurenelementen in Kürbiskernölen mittels ICP-MS näher beschrieben.

Die Messgröße, ist die Konzentration der SEE in Kürbiskernöl und wird, wie in Formel 1 angegeben, berechnet.

$$c(\text{SEE}) = c(\text{Probe}) \cdot D \cdot F_w \quad (1)$$

$c(\text{SEE})$	Konzentration der SEE in der Probe [ngg^{-1}]
$c(\text{Probe})$	Konzentration der Probelösung [ngml^{-1}]
D	Verdünnungskoeffizient $D = V(\text{End}) / m(\text{Probe})$ V(End): Volumen vor der Messung mit ICP-MS [ml] m(Probe): Masse des Öls [g]
F_w	Wiederholbarkeit

7.1.2 Identifizierung und Analyse der Unsicherheitsquellen

Die Identifizierung aller relevanten Unsicherheitsquellen ist in Abbildung 13, dem Ursachen-Wirkungsdiagramm, zusammengefasst.

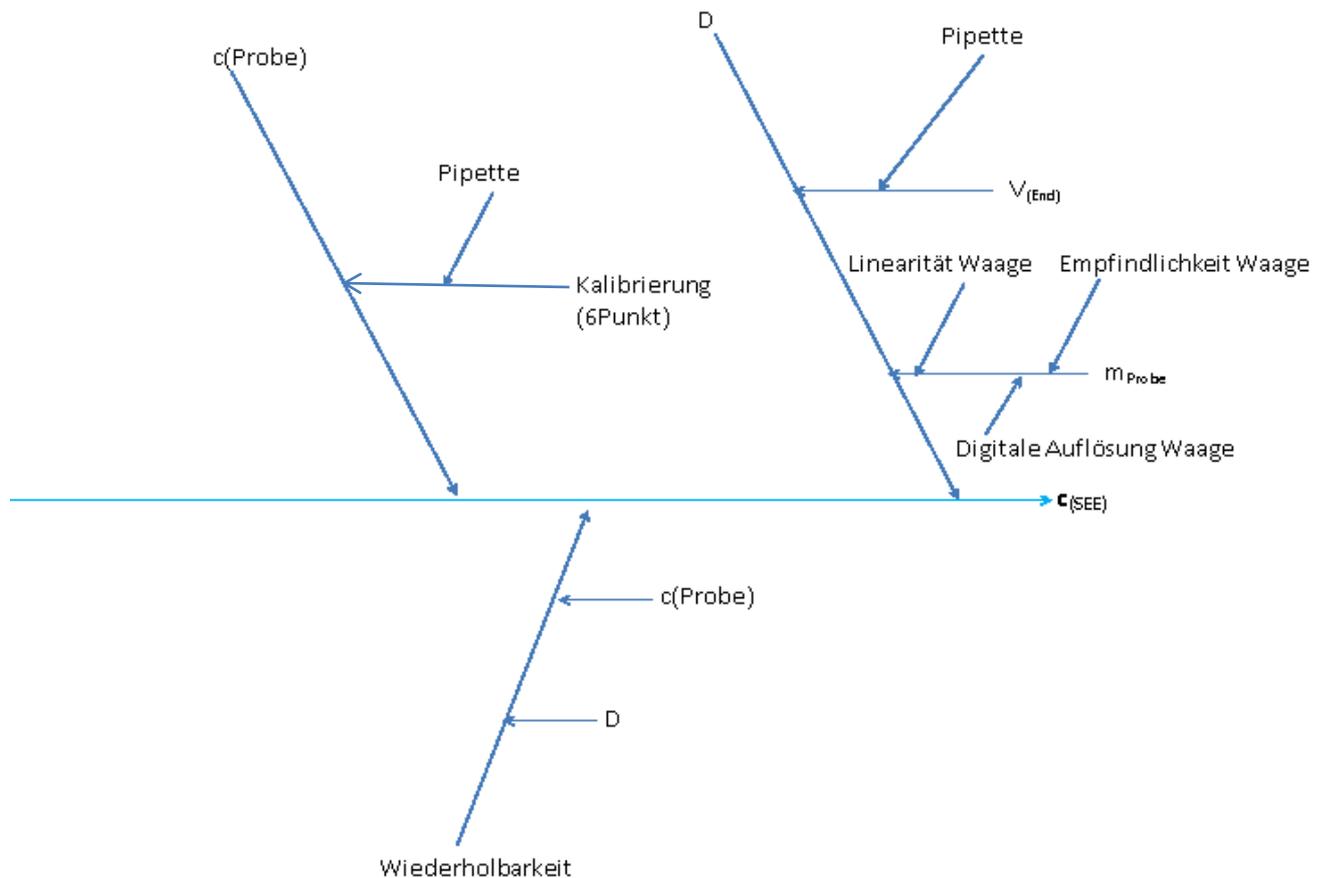


Abbildung 13: Ursachen-Wirkungsdiagramm

Die zufällige Messabweichung des Verfahrens, die auf zufällige Einflussfaktoren, wie Temperaturschwankungen, Änderung des Analytikers usw. basieren, ist im Zweig der Wiederholbarkeit (Präzision) zusammengefasst und berücksichtigt.

Die systematische Messabweichung, der Zweige $c_{(Probe)}$ und D, Pipetten, heben sich auf, da zur Verdünnung der Kalibration, wie auch zur Erstellung des Endvolumens V_{END} , dieselbe Pipette verwendet wurde. Die Kalibration wird für jeden Batch an Proben neu erstellt. Zusätzlich werden während einer Analyse die Kalibrationsstandards

öfters gemessen, um sicher zu stellen, dass das Signal stabil ist, und nicht signifikant driftet. Durch die Kalibration fällt der systematische Beitrag weg, somit wird der Bias Null.

Somit müssen zur Quantifizierung der Unsicherheit nur mehr die Komponenten der m_{Probe} und die Wiederholbarkeit berücksichtigt werden.

7.1.3 Quantifizierung der Unsicherheitskomponenten laut dem EURACHEM-Leitfaden

Die Größe der einzelnen Unsicherheitskomponenten (siehe Abbildung 13) wird nach EURACHEM-Leitfaden (EURACHEM/CITAC, 2004) berechnet.

7.1.3.1 Beitrag zur Unsicherheit durch die Waage (m_{Probe})

Für das Wiegen werden die Unsicherheitsquellen der Ablesbarkeit (digitale Auflösung) der Waagenskala und jener Anteil, der der Kalibrierfunktion der Skala zuzurechnen ist, identifiziert. Die Kalibrierfunktion hat zwei Unsicherheitsquellen, die Empfindlichkeit und die Linearität. Die Empfindlichkeit kann vernachlässigt werden, da die Massenbestimmung immer auf der gleichen Waage erfolgt. Eine Typ B Abschätzung wurde für die Linearität und die Auflösung der Waage durchgeführt.

Das Waagen Zertifikat gibt die Linearität mit $\leq \pm 0,2$ mg und die Auflösung mit 0,01 mg an.

$$u_{m_{\text{Probe}}} = \sqrt{u_L^2 + u_A^2} \quad (2)$$

Den Beitrag zur Unsicherheit der Linearität (u_L) der Waage wird mit der Rechteckverteilung berechnet, jener der Auflösung (u_A) wird mit der Dreiecksverteilung bestimmt.

Linearität Waage (u_L): $u_L = \frac{0,2}{\sqrt{3}} = 0,11547 \text{ mg}$

Digitale Auflösung Waage (u_A): $u_A = \frac{0,01}{\sqrt{6}} = 0,00408 \text{ mg}$

Unsicherheit der Waage (u_{mProbe}): $u_{mProbe} = \sqrt{0,11547^2 + 0,00408^2} = 0,12 \text{ mg}$

Der Anteil der Unsicherheit der Waage $0,12 \text{ mg} = 1,2 \text{ E-}04 \text{ g}$ bei einer Einwaage von 1 g Kürbiskernöl ergibt $0,1\%$.

7.1.3.2 Wiederholbarkeit (Präzision)

Die Methodenpräzision bezieht sich auf die Änderung der Ergebnisse, wenn bei der Analytik ein oder mehrere Faktoren, wie Ausrüstung, Operator oder Zeit innerhalb eines Labors verändert werden. Zur Berechnung des Beitrages zur Messunsicherheit aus der Methodenpräzision können Messdaten von stabilen Kontrollproben, die den gesamten analytischen Prozess durchlaufen, herangezogen werden.

Zur Ermittlung der laborindividuellen Präzision wird das laborinterne Referenzmaterial RMKK (In house Referenzkürbiskernöl) ausgewählt.

Der arithmetische Mittelwert der Beobachtungen der Messreihe wird nach Gleichung 3, die empirische Standardabweichung nach Gleichung 4 bestimmt. Zur Bestimmung von s_{RW} wurde RMKK 23 mal aufgeschlossen und analysiert (vollständiges Bestimmungsverfahren unter Wiederholbedingungen).

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad (3)$$

x	Messwert
\bar{x}	Mittelwert aus n Messungen
n	Anzahl der Messungen

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (4)$$

s empirische Standardabweichungen aus n Messungen

Die Standardabweichung von RMKK (s_{RW}) kann direkt als Beitrag zur Unsicherheit von der Methodenpräzision $u(R_w)$ übernommen werden.

$$u(R_w) = s_{RW} \quad (5)$$

Auch LOD (Limit of Detection) und LOQ (Limit of Quantification) des Verfahrens wurden ermittelt. Hierfür wurden 20 Blindwertanalysen des gesamten Verfahrens durchgeführt, wobei sich LOD aus 3 mal der Standardabweichung und LOQ aus 10 mal der Standardabweichung der 20 Blindwertanalysen ergibt. Die durchschnittlich berechneten SEE Konzentrationen für RMKK in ngg^{-1} und der Beitrag zur Unsicherheit von der Methodenpräzision $u(R_w)$, LOD (Limit of Detection) und LOQ (Limit of Quantification) sind in Tabelle 6 angegeben.

Tabelle 6: Durchschnittliche Konzentration von SEE und Standardabweichung von RMKK s_{Rw} (n=23), LOD (Limit of Detection) und LOQ (Limit of Quantification), Beitrag zur Unsicherheit von der Methodenpräzision $u(R_w)$

Analyte	RMKK n = 23		LOD	LOQ	$u(R_w)$
	$ng\ g^{-1}$	s_{Rw}	$[ngg^{-1}]$	$[ngg^{-1}]$	$[\%]$
La	0,371	0,041	0,068	0,23	11,2
Ce	0,784	0,32	0,068	0,23	10,0
Nd	0,346	0,027	0,029	0,098	7,9
Sm	0,069	0,0059	0,0085	0,028	8,5
Eu	0,015	0,0013	0,0013	0,0043	8,6
Gd	0,064	0,0055	0,0052	0,017	8,6
Tb	0,009	0,0035	0,0008	0,0027	36,7
Ho	0,009	0,0009	0,0011	0,0037	10,6
Tm	0,003	0,0004	0,0005	0,0017	11,6
Yb	0,017	0,0015	0,0015	0,0052	8,6
Lu	0,003	0,0003	0,0003	0,0009	10,0

7.1.3.3 Erweiterte Messunsicherheit (U)

Vergleicht man den Beitrag der Unsicherheit von der Methodenpräzision, welche zwischen 7 % und 15 % für die einzelnen Elemente liegt, mit Ausnahme von Tb mit 36 % (siehe Tabelle 6), mit jenen der Waage, der bei 0,01 % liegt, kann dieser vernachlässigt werden. Somit bleibt für die erweiterte Messunsicherheit U nur mehr der Anteil der Methodenpräzision.

Tabelle 7: Beitrag zur Unsicherheit von der Methodenpräzision $u(R_w)$ und relative erweiterte Messunsicherheit U

Analyte	$u(R_w)$	U
	[%]	[%]
La	11,2	22
Ce	10,0	20
Nd	7,9	16
Sm	8,5	17
Eu	8,6	17
Gd	8,6	17
Tb	36,7	73
Ho	10,6	21
Tm	11,6	23
Yb	8,6	17
Lu	10,0	20

Die relative erweiterte Messunsicherheit U wird durch die Multiplikation des relativen Beitrags zur Unsicherheit von der Methodenpräzision $u(R_w)$ mit einem Erweiterungsfaktor 2 berechnet (siehe Tabelle 7). Die erweiterte Messunsicherheit definiert ein Intervall um das Messergebnis, von dem erwartet wird, dass es einen großen Anteil der Verteilung der Werte, die berechtigterweise auf die Messgröße zurückzuführen sind, enthält (GUM, 2008). Der Erweiterungsfaktor von 2 ergibt ein Intervall, das ungefähr 95% der Wertverteilung enthält.

$$U = 2 * u(R_w) \tag{6}$$

7.1.4 Quantifizierung der Unsicherheitskomponenten mittels Nordtest-Methode

Zur Bestimmung der Messunsicherheit des Verfahrens werden die Unsicherheitskomponenten der Präzision und Richtigkeit miteinander kombiniert. Die Unsicherheitskomponente der Präzision ist in Tabelle 7 dargestellt.

Die Unsicherheitskomponente der Richtigkeit wird als systematische Messabweichung, die durch Messung zertifizierter Referenzmaterialien quantifiziert wird, ausgedrückt (Magnusson et al., 2004).

7.1.4.1 Untersuchung der systematischen Abweichungen (Bias)

Zertifiziertes Referenzmaterial

Zur Kontrolle der Richtigkeit des Analysenergebnisses wird ein Standard Referenzmaterial Apple Leaves NIST SRM 1515 (100mg, NIST SRM1515, Gaithersburg, Maryland, USA) nach dem gleichen Verfahren analysiert, wie die zu untersuchende Probe (Mittelwerte [ngg^{-1}], $n=11$; Tabelle 8). Als Maß für die Richtigkeit des Analysenergebnisses wird die Abweichung des Ergebnisses vom erwarteten Wert (nicht zertifizierte Werte vom Zertifikat), angesehen. Eine Forderung ist laut Nordtest 2004 und ISO/AOAC/IUPAC (1999), dass die Zusammensetzung des Referenzmaterials der zu untersuchenden Probe ähnlich ist, damit das Ergebnis der Referenzmaterial-Analyse repräsentativ für die zu untersuchende Probe ist. Festzuhalten ist, dass die Matrix des Standard Referenzmaterial Apple Leaves NIST SRM 1515 und das Probenmaterial nicht ident sind. Es gibt kein Referenzmaterial für pflanzliche Öle mit zertifizierten Vergleichswerten für SEE. Das Standard Referenzmaterial Apple Leaves NIST SRM 1515 ist das einzige Standard Referenzmaterial mit organischer Matrix, für die es Vergleichswerte für SEE gibt, wenngleich die Werte nicht zertifiziert sind für SEE. Die Konzentrationen der SEE liegen im Standard Referenzmaterial Apple Leaves NIST SRM 1515 viel höher, als im Kürbiskernöl. Das Standard Referenzmaterial Apple

Leaves NIST SRM 1515 wurde aber zur Messung soweit verdünnt, dass es auch im gleichen Konzentrationsbereich lag, wie die extrahierten Kürbiskernöle, und mit der gleichen Kalibration ausgewertet werden konnte.

Tabelle 8: Standard Referenzmaterial Apple Leaves NIST SRM 1515 (n=11)

Analyte	Eigene Werte		Zertifikat**	Kučera et al. (2007)	
	$\mu\text{g g}^{-1}$	CI*	$\mu\text{g g}^{-1}$	$\mu\text{g g}^{-1}$	$\pm u$
La	20,3	0,6	<i>20</i>	19,20	0,10
Ce	3,11	0,10	<i>3,1</i>	3,04	0,04
Nd	15,8	0,9	<i>17</i>	16,3	0,5
Sm	2,82	0,08	<i>3</i>	3,06	0,02
Eu	0,255	0,008	<i>0,2</i>	0,251	0,003
Gd	2,84	0,07	<i>3</i>	2,68	0,07
Tb	0,354	0,013	<i>0,4</i>	0,34	0,003
Ho	0,284	0,009	<i>0,319</i>	0,380	0,014
Tm	0,0500	0,0024	<i>0,057</i>	0,051	0,005
Yb	0,189	0,007	<i>0,3</i>	0,200	0,006
Lu	0,020	0,002	<i>0,026</i>	0,020	0,003

* CI 95% Konfidenzinterfall (mit Student t-Faktor berechnet)

** nicht zertifizierte Werte vom Zertifikat

Der im Nordtest 2004 vorgestellte Ansatz zur Erfassung der Unsicherheit der systematischen Messabweichung, ist eine Anpassung für die Messung zertifizierter Referenzmaterialien. Neben der systematischen Messabweichung als Differenz zum zertifizierten Wert (bias), sind die Unsicherheit des zertifizierten Wertes $u(c_{\text{Ref}})$ für die Unsicherheit der systematischen Messabweichung zu berücksichtigen:

$$u(bias) = \sqrt{(bias)^2 + \left(\frac{s_{bias}}{\sqrt{n}}\right)^2 + u^2(c_{Ref})} \quad (7)$$

u(bias)	Beitrag zur Unsicherheit bias
bias	systematische Messabweichung (bias= $\bar{x}_{Lab} - c_{Ref}$ mit \bar{x}_{Lab} : Messwert Labor und c_{Ref} : Referenzwert
s_{bias}	Standardabweichung aus der Kontrollanalyse
n	Anzahl der Mehrfachbestimmungen
u(c_{Ref})	Unsicherheit des zertifizierten Referenzmaterials

Da es sich, wie oben erwähnt, um nicht zertifizierte Werte der Lanthanoide des Standard Referenzmaterials Apple Leaves NIST SRM 1515 handelt, wurden für die Unsicherheit des zertifizierten Wertes $u(c_{Ref})$ jene Werte von Kučera et. al (2007) (siehe Tabelle 8) verwendet.

In Tabelle 9 wird der mittlere Messwert ($n=11$) des Standard Referenzmaterial Apple Leaves NIST SRM 1515 (\bar{x}_{LAB}), der Referenzwert des Standard Referenzmaterial Apple Leaves NIST SRM 1515 vom Zertifikat (c_{Ref}), der berechnete bias s_{bias} ($n=11$) und $u(bias)$, berechnet nach Formel 7 angegeben.

Tabelle 9: Standard Referenzmaterial Apple Leaves NIST SRM 1515 (n=11)

Analyte	\bar{x}_{Lab}	C_{Ref}	bias	S_{bias}	$u(\text{bias})$
	$\mu\text{g g}^{-1}$	$\mu\text{g g}^{-1}$	[%]	[%]	[%]
La	20,3	20	1,6	4,2	4,5
Ce	3,11	3,1	0,3	4,8	5,0
Nd	15,8	17	-7,6	8,3	4,7
Sm	2,82	3	-6,5	4,4	7,9
Eu	0,255	0,2	21,4	4,5	21,9
Gd	2,84	3	-5,7	3,8	7,3
Tb	0,354	0,4	-13,1	5,4	14,2
Ho	0,284	0,319	-12,4	4,8	13,8
Tm	0,0500	0,057	-14,2	7,2	18,7
Yb	0,189	0,3	-58,6	5,9	59,0
Lu	0,020	0,026	-25,9	15,0	33,5

7.1.4.2 Berechnung der kombinierten erweiterten Messunsicherheit

Die relative kombinierte Messunsicherheit u_c berechnet sich aus der Quadratwurzel der Summe der quadrierten Unsicherheitskomponenten.

$$u_c = \sqrt{u^2(R_w) + u^2(\text{bias})} \quad (8)$$

- u_c relative kombinierte Messunsicherheit
- $u(R_w)$ Beitrag zur Unsicherheit von der Methodenpräzision
- $u(\text{bias})$ Beitrag zur Unsicherheit bias nach Gleichung 7

Die relative erweiterte Messunsicherheit U wird wie in Formel 6 bestimmt.

Tabelle 10: Beitrag zur Unsicherheit bias nach Gleichung 7 $u(\text{bias})$, relativer Beitrag zur Unsicherheit von der Methodenpräzision $u(R_w)$, relative kombinierte Messunsicherheit u_c und die relative erweiterte Messunsicherheit U

Analyte	$u(\text{bias})$	$u(R_w)$	u_c	U
	[%]	[%]	[%]	[%]
La	4,5	11,2	12,1	24
Ce	5,0	10,0	11,2	22
Nd	4,7	7,9	9,2	18
Sm	7,9	8,5	11,6	23
Eu	21,9	8,6	23,5	47
Gd	7,3	8,6	11,3	23
Tb	14,2	36,7	39,4	79
Ho	13,8	10,6	17,4	35
Tm	18,7	11,6	22,0	44
Yb	59,0	8,6	59,6	119
Lu	33,5	10,0	35,0	70

7.1.5 Vergleich der erweiterten Unsicherheiten (U) ermittelt gemäß EURACHEM-Leitfaden und Nordtest-Methode

In Tabelle 11 werden die erweiterten Unsicherheiten (U) in % der SEE Gehalte in Kürbiskernölen, welche nach den Grundlagen des EURACHEM-Leitfadens und der Nordtest-Methode ermittelt wurden, miteinander verglichen. Die erweiterten Unsicherheiten (U) nach den Grundlagen des EURACHEM-Leitfadens sind kleiner, als jene, die nach der Nordtest-Methode ermittelt wurden.

Tabelle 11: Die erweiterte Unsicherheit (U) in % der SEE Gehalte in Kürbiskernölen. U* bestimmt nach dem EURACHEM-Leitfaden und U bestimmt nach der Nordtest-Methode**

Analyte	U*	U**
	[%]	[%]
La	22	24
Ce	20	22
Nd	16	18
Sm	17	23
Eu	17	47
Gd	17	23
Tb	73	79
Ho	21	35
Tm	23	44
Yb	17	119
Lu	20	70

Die Philosophie der Nordtest-Methode besteht darin, im Labor existierende Qualitätssicherungsdaten (Qualitätsregelkarten, Wiederfindungsergebnisse, Ergebnisse für Referenzmaterialien) für die Ermittlung der Messunsicherheit heranzuziehen und keine zusätzlichen Experimente durchführen zu müssen. Im Gegensatz zum Bottom-up-Ansatz, bei dem alle Unsicherheitskomponenten einzeln ermittelt werden, können beim Top-down-Ansatz der Nordtest Methode mehrere Unsicherheitskomponenten gemeinsam bestimmt werden. Jene Quellen bzw. einzelnen Komponenten die den größten Beitrag zur Unsicherheit liefern sind aber durch die Nordtest-Methode oft nicht erkennbar. Die Messunsicherheit kann zwar mit der Nordtestmethode schneller und einfacher abgeschätzt werden aber um die Messunsicherheit analytischer Methoden zu verbessern muss der Bottom-up-Ansatz angewandt werden.

8 Ergebnisse

Teile die in Kapitel 8 Ergebnisse beschrieben werden, wurden bereits in Identification of the geographical origin of pumpkin seed oil by the use of rare earth elements and discriminant analysis (Joebstl et al., 2010), Suitability of elemental fingerprinting for assessing the geographic origin (Curcubita pepo var. Styriaca) seed oil (Bandoniense et al., 2013) sowie in Identifizierung der geographischen Herkunft von Kürbiskernölen (Joebstl et al., 2008) publiziert.

8.1 Ermittlung relevanter Einflussfaktoren zur Herkunftsbestimmung auf Basis von Elementspurenuntersuchungen

Es wurden systematische Untersuchungen von Spurenelementkonzentrationen in Böden, Kürbiskernen und Kürbiskernölen verschiedener Herkunft (Vertragslandwirte aus verschiedenen Ländern und Regionen) durchgeführt. Da, zusätzlich zu den regionalen Unterschieden, die Konzentration der Elementspuren in Kürbiskernölen von vielen verschiedenen Faktoren, wie beispielsweise der Homogenität der Böden und der Kürbiskerne, der Zusammensetzung von Böden, dem Reifegrad der Kürbisse, den Düngemitteln und der Kontamination oder dem Verlust der Analyten während der Verarbeitung bzw. Probenvorbereitung abhängig sein könnte, wurden systematische Untersuchungen der wichtigsten dieser Einflussfaktoren unter kontrollierten Bedingungen mit Hilfe von Versuchsfeldern durchgeführt.

Der Einflussfaktor Düngemittel konnte in dieser Arbeit nicht erhoben werden, da eine Probenahme der Düngemittel bei den einzelnen Landwirten nicht möglich war.

8.1.1 Variationen der SEE-Konzentrationen und der SEE-Verteilung im Boden

Insgesamt wurden für die Versuchsfelder 3 bis 5 fünfzig Laborproben, vom Versuchsfeld 2 sechsunddreißig Laborproben und vom Versuchsfeld 1 achtundvierzig Laborproben gesammelt. Diese Laborproben wurden dann jeweils zweimal aufgeschlossen und analysiert. Um festzustellen, ob Unterschiede in der SEE-Zusammensetzung des Bodens zwischen den einzelnen Versuchsfeldern, den Parzellen eines Feldes, den 2 Tiefen (0-5 cm, 5-10 cm) oder, ob die Probenvorbereitung (Aufschluss) und die Analyse einen Einfluss haben, wurde eine ANOVA durchgeführt. Tritt ein p-Wert kleiner 0,05 auf, gibt es einen statistisch signifikanten Unterschied des Elements bei einem 95%-Konfidenzniveau (siehe Tabelle 12).

Die Ergebnisse der ANOVA verdeutlichen, dass es signifikante Unterschiede der Elemente zwischen den einzelnen Versuchsfeldern gibt. Diese Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsfeldern sind auch in Abbildung 14 gezeigt. Es ist deutlich ersichtlich, dass jedes Versuchsfeld ein charakteristisches SEE Muster hat, dass die Unterschiede der SEE Zusammensetzung im Boden zwischen den Feldern unterschiedlicher Herkunft signifikant groß ist (Konfidenzintervall mit Signifikanzniveau 95 % Wahrscheinlichkeit gerechnet). Die Ergebnisse der ANOVA zeigen auch, dass die Variation der Konzentrationen von Seltenen Erden (SEE) innerhalb eines Feldes (Parzellen) einen signifikanten Unterschied, für fast alle Elemente, ausgenommen La, Er, Tm, Yb, Lu aufweisen. Aufgrund dieser Unterschiede in den Parzellen ist es ratsam, für weitere Bodenanalysen, immer Mischproben von den Versuchsfeldern zu entnehmen und zu analysieren. Die ANOVA zeigt bei einigen Elementen auch signifikante Unterschiede in der Tiefe. Keine signifikanten Unterschiede konnten beim Faktor Aufschluss festgestellt werden, somit hat die Probenvorbereitung keinen Einfluss auf die Variation der Konzentration der SEE.

Tabelle 12: Zusammenfassung der Type III Sum of Squares Analyse für alle Elemente

		Y	La	Ce	Pr	Nd	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu	Th	U
Feld	F	12,655	30,784	7,909	34,339	60,946	61,629	135,085	77,200	75,740	56,023	64,559	31,668	54,463	59,889	49,773	51,208	115,526
	Pr > F	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001
Parzelle	F	2,451	1,502	2,656	1,926	1,849	1,788	2,180	1,978	2,275	2,224	1,838	1,529	1,420	1,371	1,215	1,697	2,360
	Pr > F	0,000	0,062	< 0,0001	0,006	0,009	0,013	0,001	0,004	0,001	0,001	0,010	0,054	0,092	0,115	0,223	0,022	0,000
Tiefe	F	0,033	6,804	0,012	0,821	7,844	3,935	0,313	3,248	6,023	0,127	3,081	0,014	4,322	3,365	1,710	17,299	28,692
	Pr > F	0,856	0,009	0,914	0,365	0,005	0,048	0,576	0,072	0,015	0,722	0,080	0,906	0,038	0,067	0,192	< 0,0001	< 0,0001
Aufschluss	F	0,115	0,400	0,683	0,680	0,310	0,907	0,419	1,172	2,222	0,362	1,724	0,000	2,090	1,515	1,848	3,053	1,281
	Pr > F	0,734	0,528	0,409	0,410	0,578	0,341	0,518	0,280	0,137	0,548	0,190	0,983	0,149	0,219	0,175	0,081	0,258

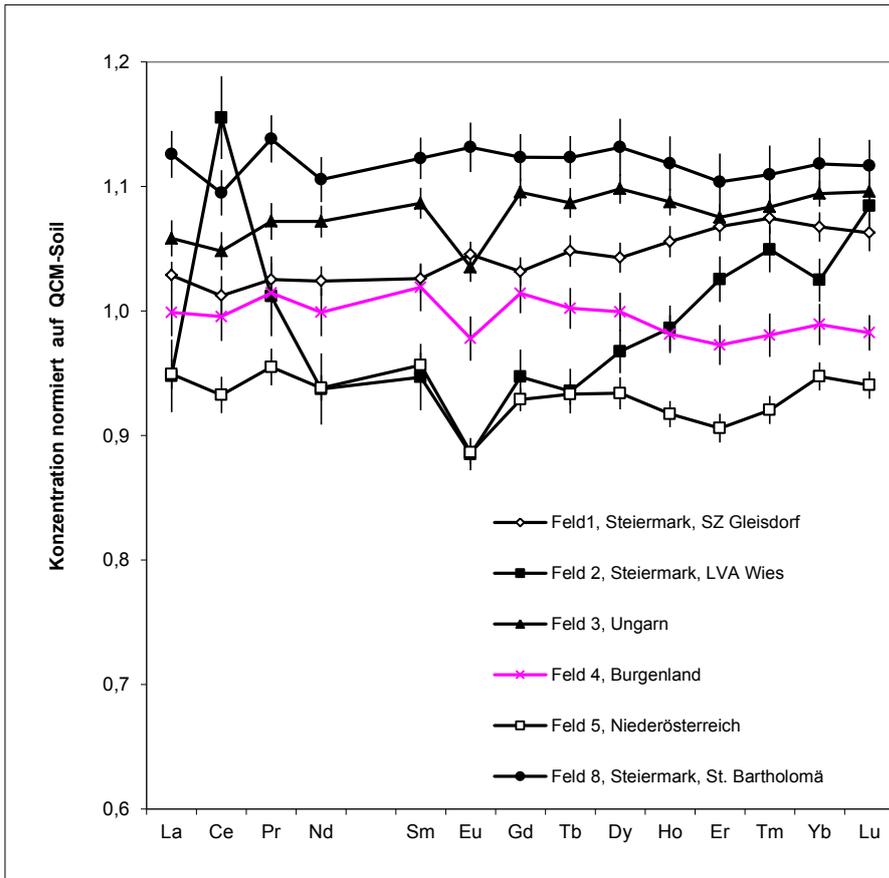


Abbildung 14: Verteilung der SEE in den geographisch verschiedenen Versuchsfeldern (Joebstl et al., 2008)

8.1.2 Witterungseinfluss auf die SEE-Verteilung im Boden

Um den Witterungseinfluss zu überprüfen, wurde eine kontinuierliche Bodenprobenahme der Versuchsfelder 2 und 5 über zwei Jahre (im Frühling und Herbst 2006 - 2007) durchgeführt.

In der Abbildung 15 und Abbildung 16 sind die Ergebnisse der Jahre 2006 und 2007 der Versuchsfelder 2 und 5 ersichtlich. Es zeigt sich, dass sich die SEE Muster nicht gravierend ändern, somit hat die Witterung von Jahr zu Jahr keinen signifikanten Einfluss auf die Zusammensetzung von SEE im Boden. Die Daten des Versuchsfel-

des 2 wurden auch mittels einer ANOVA ausgewertet, um zu sehen ob es Unterschiede in der Konzentration der einzelnen SEE im Frühling und Herbst über zwei Jahre gibt. Die Ergebnisse der ANOVA des Versuchsfeldes 2 sind in Tabelle 13 dargestellt und zeigen, dass einzig bei den Elementen Eu und Yb ein signifikanter Einfluss festgestellt wurde. Aufgrund von fehlenden Daten, im Frühling 2007, des Versuchsfeldes 5 konnten diese nur graphisch ausgewertet werden (Abbildung 16).

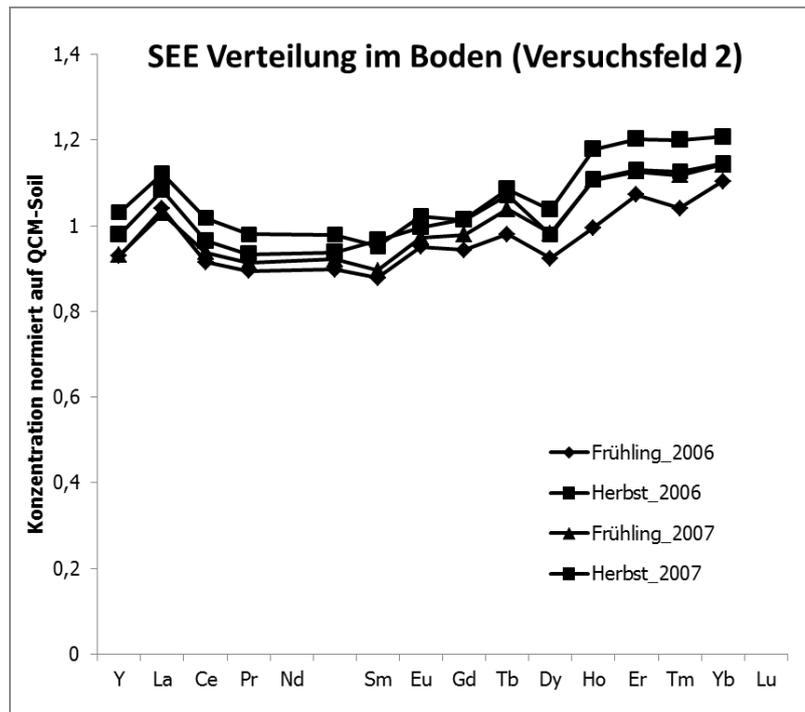


Abbildung 15: Verteilung der SEE im Boden von Versuchsfeld 2 über zwei Jahre

Tabelle 13: Ergebnis ANOVA Versuchsfeld 2

	La	Ce	Pr	Nd	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu
R²	0,024	0,016	0,023	0,017	0,018	0,125	0,016	0,032	0,066	0,066	0,055	0,064	0,122	0,048
F	0,970	0,638	0,912	0,654	0,718	5,573	0,653	1,302	2,755	2,768	2,270	2,652	5,38	1,979
Pr>F	0,410	0,592	0,438	0,582	0,543	0,001	0,582	0,277	0,046	0,045	0,084	0,052	0,002	0,121

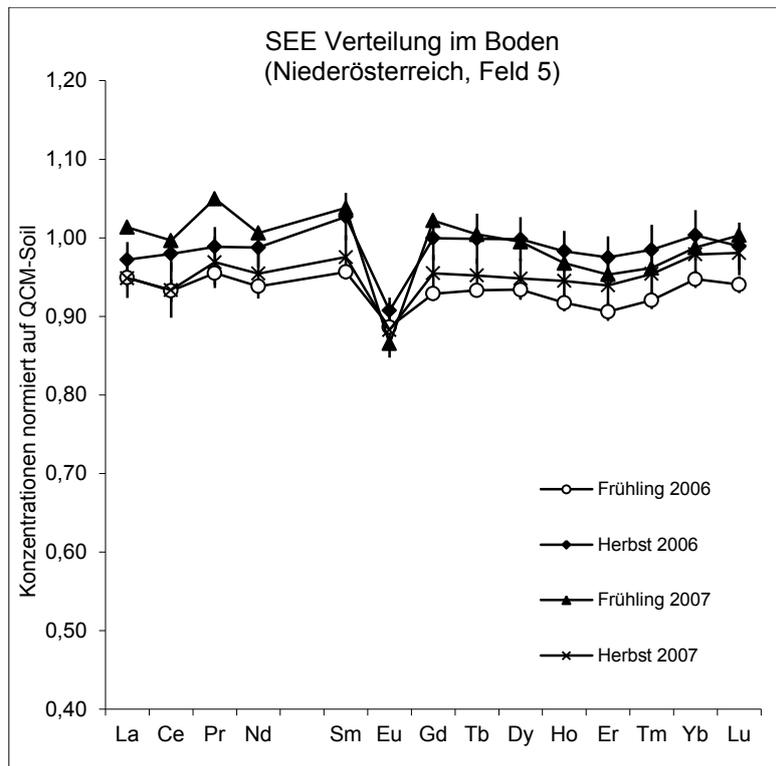


Abbildung 16: Verteilung der SEE im Boden von Versuchsfeld 5 über zwei Jahre

8.1.3 Beziehung der Spurenzusammensetzung von Boden und Kürbiskernöl von Kürbissen aller Parzellen

Von jeder Parzelle der Versuchsfelder 1 und 2 wurden Kürbiskernproben entnommen, welche zum Vergleich des SEE-Fingerabdrucks im Boden und im Kürbiskernöl herangezogen wurden.

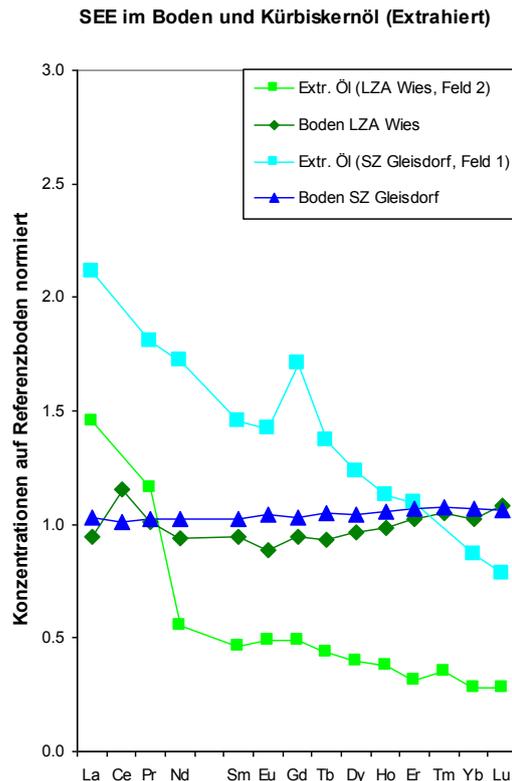


Abbildung 17: Vergleich der SEE Muster des Bodens mit jenen des Öles gleicher Herkunft. Die Konzentrationen der SEE aller Proben sind auf Konzentrationen der Referenzbodenprobe (QCM-Soil) normiert und normierte Konzentrationen in Ölen sind 100 000 fach multipliziert.

In Abbildung 17 wurden die SEE Muster des Bodens und des Öls gleicher Herkunft miteinander verglichen. Es ist deutlich sichtbar, dass es regionale Unterschiede der SEE Muster in Kürbiskernölen unterschiedlicher Herkunft gibt. Es konnte aber kein direkter Zusammenhang zwischen der SEE Zusammensetzung im Boden und jener in Kürbiskernölen der gleichen Herkunft gefunden werden. Weiters wurde festgestellt, dass die Unterschiede zwischen den SEE Mustern in Ölen unterschiedlicher geographischer Herkunft größer sind als jene in Böden. Auch Wytttenbach et al. (1998a) zeigt, dass die SEE-Verteilung in Pflanzen und in Böden oder Boden-Eluaten miteinander sehr wenig bis gar nicht korrelieren. Daraus lässt sich schließen, dass nur die Pflanzen in der Lage sind, SEE in einer bestimmten gelösten Form aufzunehmen und

diese dann selbst fraktionieren. In vielen verschiedenen Arbeiten werden mögliche Aufnahmemechanismen der SEE vom Boden in die Pflanze diskutiert (Fu et al., 2001; Tyler, 2004; von Tucher and Schmidhalter, 2005; Wytenbach et al., 1998b).

Die Aufnahme der SEE in die Pflanze ist oft schwach und korreliert mit dem pH-Wert des Bodens, der leichten Löslichkeit der Elemente, selten aber mit der totalen Konzentration im Boden (Tyler, 2004; von Tucher and Schmidhalter, 2005).

Da sich herausstellte, dass kein direkter Zusammenhang der SEE Zusammensetzung im Boden und in Kürbiskernölen der gleichen Herkunft besteht, wurden des weiteren keine Böden mehr analysiert, sondern nur mehr Kürbiskernöle.

8.1.4 SEE-Verteilung in Kürbiskernöl und die jährlichen Witterungseinflüsse

Um den jährlichen Witterungseinfluss auf die SEE-Verteilung in Kürbiskernöl zu überprüfen, wurden über drei Jahre Kürbiskernproben von gleichen Vertragslandwirten und gleicher Herkunft aus Österreich verwendet und über drei Jahre auf Spurenelemente untersucht. Die SEE Muster der extrahierten Kürbiskernöle aus Kernen der Ernten 2007, 2008 und 2009 derselben Kürbisbauern wurden verglichen. Die Ergebnisse in der Abbildung 18 zeigen, dass die Muster der SEE sich über drei Jahre nicht oder wenig geändert haben, sondern nur Konzentrationsschwankungen vorliegen. Diese Konzentrationsschwankungen können von der Ernte (Zeitpunkt) bzw. des Reifegrads des Kürbisses beeinflusst werden.

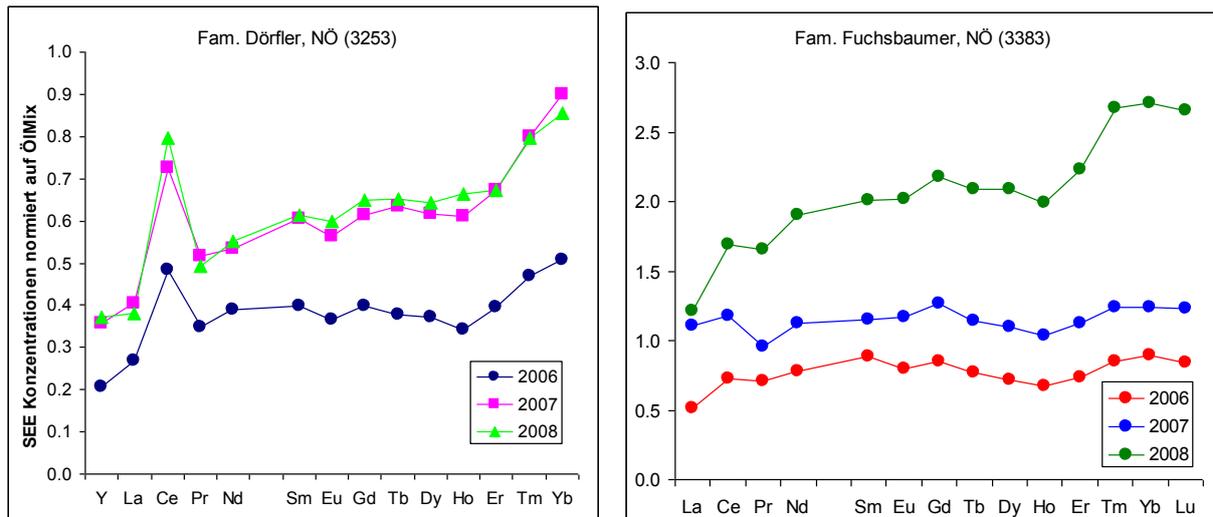


Abbildung 18: Vergleich der Verteilungen der SEE in extrahiertem Kürbiskernöl bestimmter Herkunft (zwei unterschiedliche Anbauggebiete in Niederösterreich (NÖ) mit den Postleitzahlen 3253 und 3383) über drei Jahre: 2006 (n=2), 2007 (n=2), und 2008 (n=2).

Die Muster der SEE Patterns bleiben stabil, somit ist die beobachtete, aber auch erwartete, Witterungsunabhängigkeit der SEE-Verteilung ein wesentlicher Vorteil für langfristige Untersuchungen, sowie für die Stabilität der Methode. Da die wesentlichen Charakteristika der SEE sich von Jahr zu Jahr in Kernen bzw. Kernölen nicht ändern, weist jede Region bzw. jeder Kürbiskernbauer einen eigenen langfristigen Fingerabdruck der SEE auf.

8.1.5 Beeinflussung der SEE-Verteilung in Kürbiskernöl durch die Verarbeitung

Um sicher zu stellen, dass es zu keiner Kontamination der Ölproben bei der Verarbeitung in der Mühle kommt und das man das Öl ohne Verunreinigungen direkt auf einen bestimmten geographischen Ursprung zurückführen kann, wurden die Kerne im Labor extrahiert. Im Zuge dieses Versuchs wurde festgestellt, dass die Konzentration der Spurenelemente in gepresstem Öl höher als in extrahiertem Öl ist, aber das Mus-

ter der SEE fast gleich bleibt (Abbildung 19). Abweichungen der Elementkonzentrationen zwischen gepresstem Öl und mit Soxhlet extrahiertem Öl der gleichen Kerne konnte auch von (Juranovic et al., 2003) beobachtet werden. Eigentlich wurde durch eine effektive Extraktion erwartet, dass nicht nur die möglichen Kontaminationen in der Mühle ausgeschlossen werden, sondern auch die Spurenelementgehalte in extrahierten Ölen erhöht werden. Die Ergebnisse haben gezeigt, dass Soxhlet Extraktionsbedingungen viel milder als jene beim Ölpresen sind. Es ist anzunehmen, dass beim Pressen bei höheren Temperaturen, unter Druck, mehr SEE aus der Schale des Kerns herausgeholt werden. Im Vergleich mit industriell gepresstem Öl, ist extrahiertes Öl klarer und frei von Schwebstoffen (filtriert durch die Extraktionshülse). Es ist anzunehmen, dass es zu höheren Konzentrationen von SEE in gepressten Ölen kommt, da die SEE in diesen Schwebstoffen eingeschlossen sein könnten und sich schwieriger in Öl lösen. Es wurde auch schon mittels in ASE (die Beschleunigte Lösungsmittelextraktion) extrahierten Ölen festgestellt, dass durch hohen Druck und hohe Temperaturen (60 bis 120 °C, 100 bar) die SEE Gehalte in den Ölen erhöht wurden, aber die signifikanten regionalen Unterschiede geringer waren und auch die Ergebnisse nicht gut reproduzierbar waren.

Auf Grund all dieser Beobachtungen kann man festhalten, dass die Herstellungsbedingungen vor allem den Gehalt der SEE im Öl beeinflussen können. Zur Identifizierung der geographischen Herkunft der Öle bzw. Kernen ist es aber sehr wichtig, eine stabile und robuste Methode zu haben. Das kann man nur erreichen, wenn das Öl immer gleich, unter kontrollierten Bedingungen, aus den Kernen gewonnen wird, weil nur dann die SEE Muster der Öle verglichen werden können.

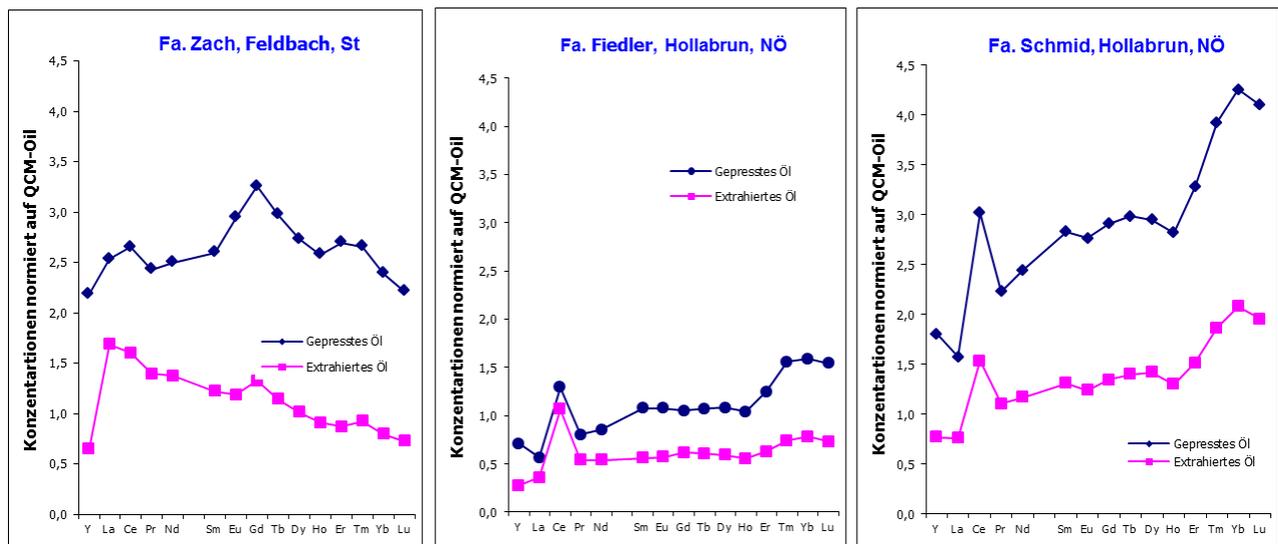


Abbildung 19: Vergleich der SEE Muster in gepressten und extrahierten Ölen definierter Herkunft (Joebstl et al., 2008).

8.1.6 Homogenität und Wiederholbarkeit des SEE-Musters der Kürbiskerne innerhalb eines Feldes

Um die Homogenität und die Wiederholbarkeit des SEE-Musters der Kürbiskerne innerhalb eines Feldes zu überprüfen, wurde das Versuchsfeld St. Bartholomä mit einer Größe von ca. 1,5 ha herangezogen. Dieses wurde in sechzehn Parzellen der Größe 30 x 30 m unterteilt, von jeder Parzelle wird ein Kürbis als Probe genommen und analysiert (Abbildung 20).

Die Homogenität und die Wiederholbarkeit des SEE-Musters der Kürbiskerne innerhalb eines Feldes wurde auch bei Versuchsfeld 2 überprüft. Hierzu wurden im Herbst 2006 von jedem der achtzehn Parzellen Kürbisse geerntet und ca. 100 – 200 g Kerne entnommen, die zur Analyse herangezogen wurden. Die Probenahme wurde von der LVA Wies durchgeführt.

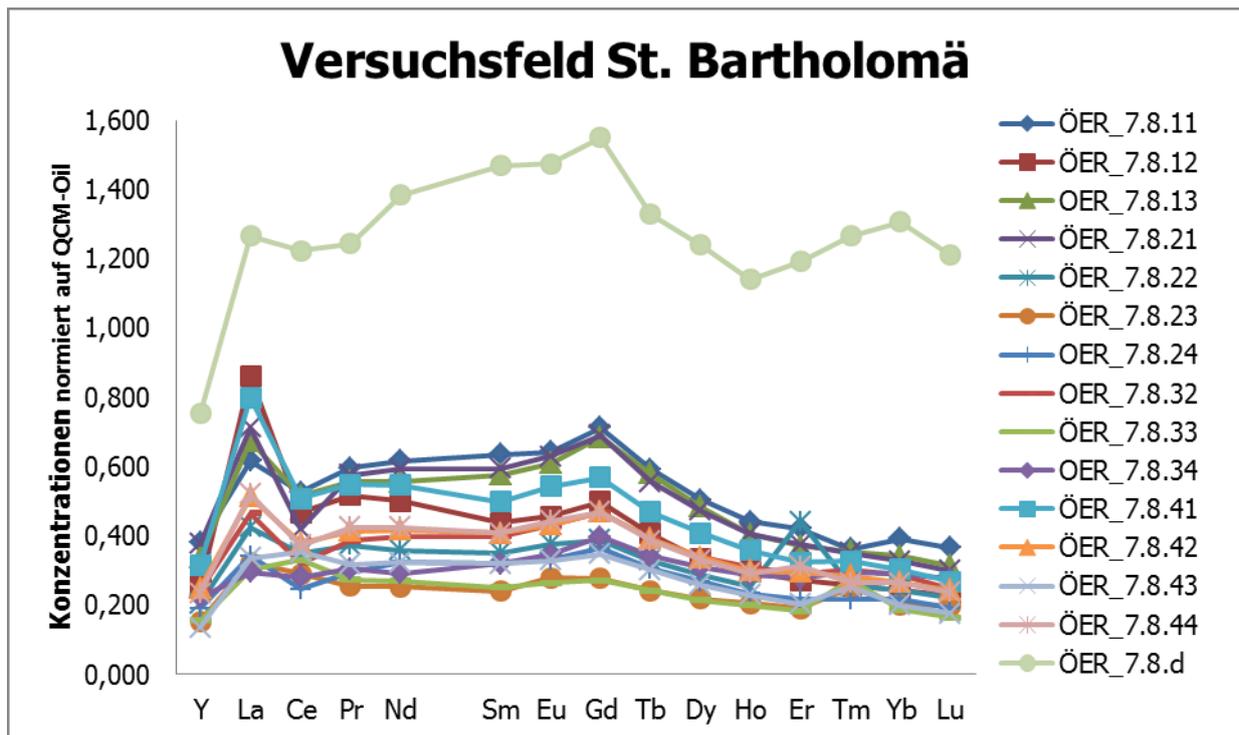


Abbildung 20: SEE-Muster der 14 analysierten Kürbisse vor der Ernte von Versuchsfeld St. Bartholomä mit einer Durchschnittsprobe ÖER_7.8.d nach der Ernte des Feldes

Die Ergebnisse zeigen nicht nur, ob ein Kürbis eines Feldes für den Gehalt an SEE für dieses Feld repräsentativ ist, sondern auch, ob die Probenvorbereitung (Aufschluss) und die Analyse einen Einfluss haben. Es wurde eine ANOVA mit Excel Zweifaktorial ohne Messwiederholung durchgeführt. Ein Einfluss ist gegeben, wenn der kritische F-Wert kleiner als der statistische Test-Wert wird (Tabelle 14). Durch dieses Experiment wurde auch die Annahme bestätigt, dass ein Kürbis eines Feldes für den Gehalt an SEE für dieses Feld nicht repräsentativ ist, dass deshalb Mischproben von Kernen mehrerer Kürbisse eines Feldes zur Identifizierung der geographischen Herkunft verwendet werden müssen. Die höhere Konzentration der Durchschnittsprobe ÖER_7.8.d des Versuchsfeldes St. Bartholomä bei der Ernte, kann darauf zurückgeführt werden, dass eine Anreicherung der SEE am Ende der Reifepériode stattfindet.

Die Wiederholbarkeit der Konzentrationen von SEE in gemahlene Kern innerhalb eines Feldes (Kürbiskernhomogenität), wurde auch bei Feld 2 überprüft und war nicht befriedigend, hingegen jene des SEE Musters schon (Abbildung 21). Für die Schwankung der SEE Konzentrationen der Kürbiskerne zwischen den Rastern kann auch der unterschiedliche Reifegrad der Kürbiskerne verantwortlich sein. Diese Beobachtung, dass eine drastische Anreicherung der SEE am Ende der Reifeperiode stattfindet machte auch Nakamura et al. 2006. Die Schwankungen der SEE Konzentration der Kürbiskerne kann aber auch von der Homogenität des Probenmaterials, gemahlene Kürbiskernen, abhängen. Es ist sehr schwierig, Kürbiskerne fein zu vermahlen und homogen zu mischen, sodass bei der Einwaage, die mit 1 g gemahlene Kürbiskernen für den HPA-S Aufschluss sehr gering ist, ein gleicher Anteil von Schale und Mehlkörper gewährleistet wird. Der Anteil an Spurenelementen, wie auch SEE, ist in den Schalteilen höher. Soll also die geographische Herkunft von Kürbiskernen bestimmt werden, ist es vorzuziehen, das Öl der Kerne vorher zu extrahieren, um mit dem Öl eine homogenere Probenmatrix zu erhalten.

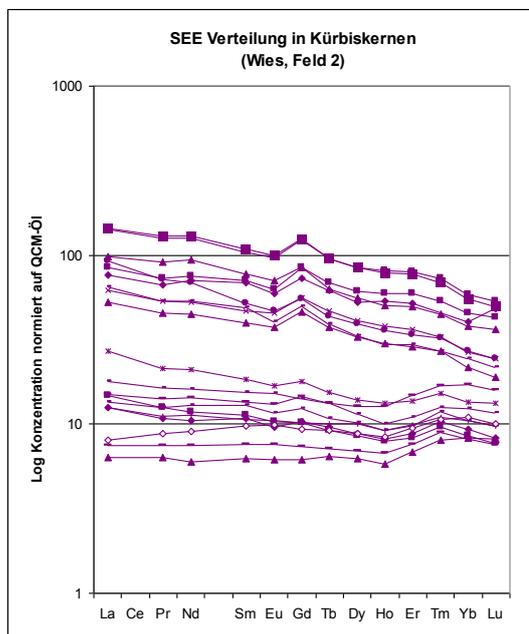


Abbildung 21: Verteilung der SEE in Kürbiskernen von Versuchsfeld 2 (LVA Wies). Es wurden ca. 100 m² Acker in 18 Raster eingeteilt und Kürbiskerne von jedem Raster extra analysiert.

Tabelle 14: ANOVA mit Excel Zweifaktorial ohne Messwiederholung

	kritische F-Wert 2.58		kritische F-Wert 4.67	
	statistische Test-Wert	Kürbis	statistische Test-Wert	Aufschluss
Y	23,1	Einfluss	5,7	Einfluss
La	42,8	Einfluss	7,2	Einfluss
Ce	5,8	Einfluss	3,8	kein Einfluss
Pr	26,5	Einfluss	5,1	Einfluss
Nd	34,8	Einfluss	4,0	kein Einfluss
Sm	34,9	Einfluss	2,8	kein Einfluss
Eu	27,3	Einfluss	5,2	Einfluss
Gd	67,7	Einfluss	3,6	kein Einfluss
Tb	35,3	Einfluss	1,7	kein Einfluss
Dy	32,7	Einfluss	2,5	kein Einfluss
Ho	19,2	Einfluss	2,4	kein Einfluss
Er	2,1	kein Einfluss	0,1	kein Einfluss
Tm	1,7	kein Einfluss	0,1	kein Einfluss
Yb	8,0	Einfluss	2,5	kein Einfluss
Lu	6,7	Einfluss	2,9	kein Einfluss
Th	2,1	kein Einfluss	0,1	kein Einfluss
Eu/Eu	1,1	kein Einfluss	1,9	kein Einfluss
Gd/Gd	2,7	Einfluss	0,2	kein Einfluss
La/Tb	122,1	Einfluss	10,2	Einfluss
La/Dy	96,5	Einfluss	5,0	Einfluss
Tb/Lu	3,3	Einfluss	1,7	kein Einfluss
Ho/Yb	1,8	kein Einfluss	0,6	kein Einfluss
La/Er	9,6	Einfluss	1,3	kein Einfluss

8.2 Erweiterung des gemessenen SEE-Musters mit anderen Spurenelementen zur schärfern Differenzierung der geographischen Herkunft

Eine Variabilität der Verteilung der Seltenen Erden in Kürbiskernen und Kürbiskernölen unterschiedlicher Regionen konnte mit den Proben aus 2006 festgestellt werden, und eine erste Klassifizierung wurde erfolgreich durchgeführt. (Joebstl et al., 2010). Eine typische Verteilung der SEE in extrahierten Kürbiskernölen unterschiedlicher Regionen ist in Abbildung 22 dargestellt. Um die russischen Proben von österreichischen, insbesondere niederösterreichischen Proben besser trennen zu können, müsste zu den Konzentrationen der SEE eine zusätzliche Information, zum Beispiel andere Elementspurekonzentrationen zugezogen werden. Für ein robustes Klassifizierungsmodell und um eine schärfere Trennung zu erreichen, war es notwendig, die Methode zur Identifizierung der geographischen Herkunft von Kürbiskernöl mit zusätzlichen Elementspuren: Ca, Cu, Zn, Rb, Sr, Y, Ba, Pb, Th und U zu den SEE zu erweitern.

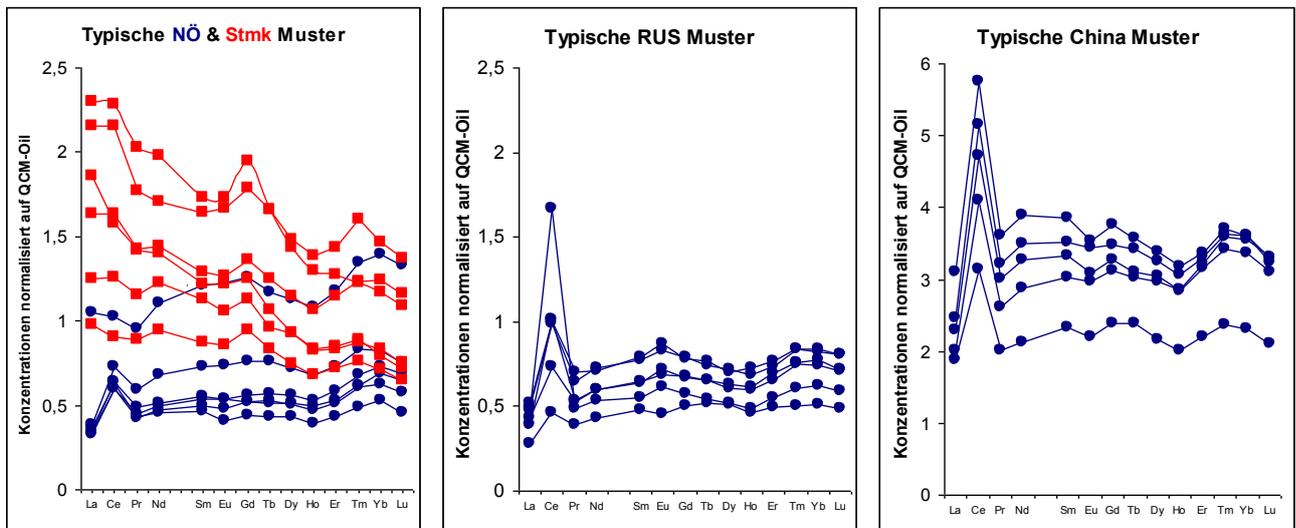


Abbildung 22: Variabilität der SEE Verteilung in extrahierten Kürbiskernölen der unterschiedlichen Regionen in Österreich (Niederösterreich, NÖ, und Steiermark, Stmk), Russland (RUS) und China. Achtung! Durch die hohen Konzentrationen in den chinesischen Proben wurde eine andere Skalierung verwendet.

8.3 Statistische Auswertung/Datenbank

Die Konzentrationen von 24 Variablen stehen zur Erstellung eines Modelles zur Bestimmung der geographischen Herkunft unbekannter Kürbiskernproben zur Verfügung: Y, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, Th, Ca, Cu, Zn, Rb, Sr, Ba, Pb, U. Zusätzlich zu diesen Konzentrationen der 24 Variablen wurden noch die diversen Verhältnisse aller Variablen gebildet, sowie die Differenz (Diff) Gd – Lu, Differenz (Diff) Pr – Eu, Differenz (Diff) La-Ce, Differenz (Diff) Ce – Pr, Differenz (Diff) La – Eu, Mittelwert leichte SEE (Mw L) - Mittelwert schwere SEE (Mw S), Mittelwert leichte SEE/Mittelwert schwere SEE, Mittelwert leichte SEE/Mittelwert schwere SEE ohne Ce, Mittelwert leichte SEE/Mittelwert schwere SEE ohne La und Ce, Mittelwert (Sm bis Dy)/Mittelwert(Ho bis Lu), die ebenfalls als Variablen zur Klassifikation herangezogen werden können.

Um die Eignung der Variablen zur Erstellung eines Klassifizierungsmodells zu prüfen, wurde vorab eine Berechnung der Fisher Verhältnisse durchgeführt. Das Fisher Verhältnis (FV) gibt die Diskriminierungskraft einer Variable für einen binären Vergleich an. Das Fisher Verhältnis ist der Quotient der Varianz zwischen den Gruppen zu der Varianz innerhalb einer Gruppe. Je größer das Fisher Verhältnis desto größer ist die Diskriminierungskraft des Parameters und die Trennung der Gruppen.

$$FV = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)}{\sum_{i=1}^{n_1} \frac{(x_{i1} - \bar{x}_1)^2}{n_1} + \sum_{i=1}^{n_2} \frac{(x_{i2} - \bar{x}_2)^2}{n_2}}$$

Wobei \bar{x}_1 und \bar{x}_2 die Mittelwerte der Variablen in Gruppe 1 und Gruppe 2 sind und n_1 und n_2 die Anzahl der Proben in Gruppe 1 und Gruppe 2. Eine Variable mit einem Fisher Verhältnis größer 1 kann zur Klassifizierung herangezogen werden (Smeyers-Verbeke et al., 2009).

Um geeignete Variable für die Klassifizierung der Kürbiskernproben bzw. extrahierten Kürbiskernöle zu identifizieren, wurden folgende binäre Vergleiche mit den unterschiedlichen Ländern erstellt: Österreich/andere (Russland, China); China/andere

(Russland, Österreich); Russland/andere (Österreich, China); Österreich/China; Österreich/Russland; China/Russland.

Es wurden zunächst die Fisher Verhältnisse der binären Ländervergleiche für jedes Erntejahr (2007, 2008, 2009) separat bestimmt. Zusätzlich wurden die FV auch für den Datensatz über drei Jahre berechnet. Jene Variable die aufgrund ihres FV relevant für die Klassifizierung sind, werden in den Tabelle 15 bis Tabelle 20 zusammengefasst und sind rot unterlegt.

Tabelle 15: Fisher-Verhältnis für den binären Ländervergleich Österreich/China (AUT/CHN)

AUT/CHN	2007	2008	2009	O70809	AUT/CHN	2007	2008	2009	O70809	AUT/CHN	2007	2008	2009	O70809	AUT/CHN	2007	2008	2009	O70809
Y	2,18	1,48	1,63	1,71	Ce/Pr	1,06	0,81	0,03	0,13	Eu/Tb	0,17	0,01	1,65	0,16	Sr/Yb	1,68	2,87	3,98	1,34
La	1,82	0,81	1,31	1,31	Ce/Sm	0,50	0,67	1,78	0,27	Sm/Ca	0,22	0,57	1,09	0,05	Sr/Lu	1,62	2,87	3,95	1,34
Ce	4,79	3,33	1,86	2,51	Ce/Eu	0,20	0,54	1,77	0,38	Eu/Ca	0,14	0,59	1,04	0,42	Y/Cu	1,34	0,12	0,37	0,29
Pr	3,17	1,88	1,49	1,86	Ce/Gd	1,12	0,56	1,82	0,41	Gd/Ca	0,26	0,58	1,08	0,51	Ce/Y	2,52	1,71	0,09	0,33
Nd	3,29	1,98	1,47	1,87	Ce/Tb	0,89	0,71	1,91	0,42	Tb/Ca	0,24	0,64	1,17	0,54	Pr/Y	1,21	0,57	1,01	0,99
Sm	3,74	2,28	0,01	0,39	Ce/Dy	0,88	0,55	1,88	0,42	Dy/Ca	0,24	0,64	1,14	0,53	Nd/Y	1,64	0,74	1,10	1,20
Eu	1,27	2,29	0,00	0,43	Ce/Ho	0,83	0,61	1,87	0,42	Ho/Ca	0,24	0,63	1,09	0,53	Sm/Y	3,19	0,99	5,54	0,08
Gd	3,09	2,33	0,02	0,58	Ce/Er	0,87	0,36	1,82	0,41	Er/Ca	0,23	0,63	1,03	0,50	Eu/Y	0,61	1,03	4,74	0,00
Tb	3,58	2,57	0,02	0,63	Ce/Tm	0,63	0,38	1,70	0,39	Yb/Ca	0,21	0,71	1,06	0,51	Gd/Y	1,79	2,11	7,27	0,10
Dy	3,66	2,78	0,01	0,66	Ce/Yb	0,57	0,59	1,74	0,41	Lu/Ca	0,21	0,71	1,06	0,51	Tb/Y	2,85	1,55	7,43	0,10
Ho	3,71	2,85	0,01	0,66	Ce/Lu	0,63	0,57	1,65	0,40	Sr/Ca	2,39	4,32	1,68	1,78	Dy/Y	2,48	2,05	6,83	0,08
Er	3,88	3,07	0,00	0,72	Pr/Sm	0,13	0,02	1,72	0,23	Cu/Ca	0,98	1,44	1,45	0,84	Ho/Y	2,10	1,20	6,29	0,09
Tm	4,18	2,95	0,00	0,76	Pr/Eu	0,07	0,03	1,72	0,30	Zn/Ca	0,67	1,18	0,42	0,62	Er/Y	1,42	1,73	4,99	0,06
Yb	4,08	2,90	0,00	0,74	Pr/Gd	0,12	0,03	1,82	0,35	Pb/Ca	0,52	0,54	1,01	0,50	Tm/Y	0,93	0,91	3,90	0,06
Lu	3,99	2,82	0,00	0,73	Pr/Tb	0,00	0,01	1,83	0,34	Sr/Rb	1,48	3,05	1,81	0,87	Yb/Y	0,49	0,32	3,58	0,11
Th	3,83	11,21	0,08	0,93	Pr/Dy	0,00	0,03	1,88	0,34	Sr/Ba	1,84	4,25	4,40	2,07	Diff Gd - Lu	3,04	2,30	0,03	0,58
Yb/Th	1,39	1,05	0,21	0,40	Pr/Ho	0,00	0,02	1,84	0,34	Sr/Y	1,89	2,76	1,06	0,61	Diff Pr - Eu	2,87	1,77	1,51	1,63
Pb/Th	0,59	1,14	0,09	0,22	Pr/Er	0,00	0,08	1,79	0,32	Sr/Cu	2,34	1,89	2,36	1,19	Diff La-Ce	5,93	3,74	2,02	2,78
Ca	4,69	4,51	3,15	2,42	Pr/Tm	0,01	0,06	1,63	0,30	Sr/Zn	2,47	1,75	2,29	0,53	Diff Ce - Pr	4,97	3,43	1,89	2,57
Zn	1,47	1,81	1,76	1,53	Pr/Yb	0,01	0,01	1,67	0,31	Sr/Pb	2,00	2,16	3,90	1,31	Diff La - Eu	1,75	0,77	1,31	1,28
Rb	0,15	2,70	1,64	0,18	Pr/Lu	0,00	0,01	1,58	0,31	Sr/Th	0,29	2,16	2,10	0,78	Mw L - Mw S	3,64	2,13	1,67	2,00
Sr	1,82	2,32	3,81	0,77	Nd/Sm	0,13	0,03	1,71	0,23	Sr/U	0,90	32,48	2,44	1,44	MwL/MwS	0,22	0,01	1,91	0,41
Ba	0,18	3,26	1,38	0,09	Nd/Eu	0,05	0,04	1,72	0,31	Sr/La	1,55	2,33	1,00	0,55	Cu/Rb	1,04	0,52	0,41	0,52
Pb	0,09	1,66	2,71	0,20	Nd/Gd	0,37	0,04	1,81	0,35	Sr/Ce	1,24	2,62	0,91	0,53	Cu/Ba	1,35	0,94	0,26	0,69
Th	3,54	11,33	0,06	0,91	Nd/Tb	0,01	0,01	1,82	0,35	Sr/Pr	1,42	2,53	0,87	0,53	Cu/Th	2,09	1,15	0,01	0,56
U	5,65	1,87	2,75	0,54	Nd/Dy	0,00	0,04	1,87	0,35	Sr/Nd	1,42	2,56	0,85	0,54	Cu/U	1,61	1,67	0,53	0,60
Lu/Y	0,29	0,23	3,27	0,12	Nd/Ho	0,00	0,02	1,83	0,34	Sr/Eu	3,59	2,71	4,06	1,19	Ba/Zn	0,17	1,31	0,07	0,08
La/Sm	0,48	0,09	1,57	0,17	Nd/Er	0,00	0,11	1,79	0,33	Sr/Sm	1,60	2,57	4,00	0,71	Ba/Pb	0,16	1,25	0,03	0,08
La/Eu	0,37	0,09	1,54	0,19	Nd/Tm	0,00	0,07	1,63	0,31	Sr/Gd	1,69	2,60	4,19	1,29	Zn/Th	1,03	0,86	0,59	0,00
La/Gd	0,16	0,09	1,67	0,25	Nd/Yb	0,00	0,01	1,67	0,32	Sr/Tb	1,70	2,64	4,10	1,31	MwL/MwS ohne Ce	0,00	0,09	1,77	0,38
La/Ho	0,21	0,08	1,61	0,22	Nd/Lu	0,00	0,01	1,58	0,31	Sr/Dy	1,74	2,74	4,23	1,36	MwL/MwS ohne LaCe	0,28	0,03	1,85	0,52
La/Tm	0,19	0,12	1,30	0,16	Sm/Eu	0,01	0,02	1,63	0,02	Sr/Ho	1,85	2,76	4,36	1,39					
La/Yb	0,17	0,09	1,32	0,17	Sm/Gd	2,04	0,01	0,08	0,05	Sr/Er	1,78	2,74	4,31	1,37					
La/Lu	0,14	0,09	1,24	0,17	Eu/Gd	0,24	0,00	1,49	0,17	Sr/Tm	1,69	2,79	3,97	1,32					

Tabelle 17: Fisher-Verhältnis für den binären Ländervergleich Österreich/andere (AUT/andere)

AUT/andere	2007	2008	2009	070809
Ca	1,38	1,95	4,05	1,35
Zn	0,98	1,48	1,13	1,08
Rb	0,19	1,62	1,67	0,23
Sr	1,30	0,39	2,21	0,82
Pb	0,10	1,16	0,43	0,34
Sr/Ca	1,20	0,54	1,95	0,85
Cu/Ca	0,99	0,91	1,83	0,79
Sr/Rb	0,84	0,42	1,33	0,72
Sr/Ba	2,60	3,51	4,66	2,53
Sr/Y	1,00	1,70	1,14	0,99
Sr/Cu	1,45	0,34	1,16	0,51
Sr/Zn	1,40	0,26	1,05	0,54
Sr/Pb	1,31	0,37	1,20	0,79
Sr/Th	0,35	2,02	1,33	1,01
Sr/U	0,42	2,23	2,27	0,45
Sr/La	0,76	1,56	0,99	0,81
Sr/Ce	0,54	1,51	0,82	0,72
Sr/Pr	0,75	1,71	1,06	0,89
Sr/Nd	0,71	1,70	1,07	0,89
Sr/Eu	0,96	1,63	3,25	1,73
Sr/Sm	0,74	1,68	2,93	1,06
Sr/Gd	0,82	1,69	3,15	1,68
Sr/Tb	0,80	1,81	3,15	1,71
Sr/Dy	0,81	1,89	3,11	1,74
Sr/Ho	0,88	1,88	3,14	1,79
Sr/Er	0,85	1,88	3,24	1,78
Sr/Tm	0,84	1,83	3,17	1,74
Sr/Yb	0,81	1,81	3,12	1,72
Sr/Lu	0,81	1,76	2,56	1,60
Eu/Y	0,61	1,21	0,20	0,14
Gd/Y	0,61	1,18	0,19	0,10
Dy/Y	1,03	0,52	0,19	0,10
Ho/Y	1,38	0,34	0,19	0,10
Diff La-Ce	1,29	0,48	0,66	0,70
Cu/Rb	1,08	0,33	0,64	0,47
Cu/U	0,32	0,02	1,00	0,13

Tabelle 16: Fisher-Verhältnis für den binären Ländervergleich Österreich/Russland (AUT/RUS)

AUT/RUS	2007	2008	2009	070809	AUT/RUS	2007	2008	2009	070809
Tb/Lu	0,38	0,07	1,08	0,00	Sr/Th	0,99	1,98	1,02	1,20
La/Er	0,71	0,11	1,66	0,04	Sr/U	0,66	1,99	2,18	0,40
Ce	1,09	1,83	5,75	1,01	Sr/La	1,41	2,63	2,62	1,21
Cu	0,08	1,01	0,00	0,06	Sr/Ce	1,00	1,97	1,94	1,04
Zn	1,08	1,47	1,04	0,89	Sr/Pr	1,42	2,82	2,95	1,37
Rb	1,51	1,46	2,38	1,14	Sr/Nd	1,29	2,97	2,98	1,37
Sr	0,91	1,98	3,34	1,18	Sr/Eu	1,65	3,39	2,87	2,35
Pb	0,21	1,07	0,46	0,46	Sr/Sm	1,31	3,09	2,46	1,58
U	0,00	0,02	1,39	0,31	Sr/Gd	1,34	3,04	2,69	2,04
La/Sm	0,83	0,10	1,36	0,09	Sr/Tb	1,35	3,11	2,72	2,07
La/Eu	1,35	0,15	1,39	0,57	Sr/Dy	1,36	3,09	2,63	2,07
La/Gd	0,76	0,10	1,30	0,40	Sr/Ho	1,39	3,12	2,62	2,15
Pr/Sm	0,84	0,07	1,07	0,04	Sr/Er	1,33	3,21	2,77	2,17
Pr/Eu	2,06	0,31	1,12	0,66	Sr/Tm	1,29	3,18	2,80	2,15
Nd/Eu	2,07	0,77	1,02	0,63	Sr/Yb	1,25	3,09	2,73	2,05
Sm/Eu	1,21	0,47	0,05	0,07	Sr/Lu	1,19	3,12	2,16	1,80
Tb/Ho	1,11	0,00	0,01	0,06	Y/Ba	0,51	0,46	1,02	0,62
Dy/Ho	1,07	0,00	0,12	0,00	Y/Zn	0,97	1,03	0,54	0,71
La/Ce	0,65	0,85	1,07	0,79	Y/Pb	0,62	1,24	0,90	0,76
Pr/Ce	0,70	0,86	1,11	0,82	Eu/Y	1,03	1,27	0,68	0,28
Nd/Ce	0,68	0,85	1,05	0,80	Gd/Y	0,07	1,02	0,66	0,22
Yb/Ce	0,63	1,02	0,30	0,51	Cu/Rb	1,15	0,29	0,84	0,44
Lu/Ce	0,63	1,02	0,30	0,51	Cu/U	0,00	0,01	1,49	0,03
Sr/Ce	1,09	3,71	3,82	0,67	Rb/Th	1,59	0,90	0,00	0,40
Y/Ce	0,77	0,98	1,05	0,88	Rb/U	1,03	0,78	0,14	0,14
Cu/Ce	1,00	0,80	2,13	0,76	Zn/Th	1,18	1,07	0,00	0,33
Zn/Ce	0,60	0,67	1,02	0,70	MwL/MwSohne Ce	0,62	0,09	1,01	0,41
Sr/Rb	0,97	2,09	2,41	0,64					
Sr/Ba	4,86	5,35	4,97	2,90					
Sr/Y	1,49	3,29	3,06	1,46					
Sr/Cu	1,16	1,48	2,15	0,47					
Sr/Zn	2,08	4,53	2,01	0,56					
Sr/Pb	0,89	1,51	1,42	0,57					

Tabelle 18: Fisher-Verhältnis für den binären Ländervergleich China/andere (CHN/andere)

CHN/andere	2007	2008	2009	070809	CHN/andere	2007	2008	2009	070809	CHN/andere	2007	2008	2009	070809	CHN/andere	2007	2008	2009	070809
Y	2,55	2,45	1,74	2,19	Ce/Eu	0,23	0,01	2,00	0,39	Sm/Gd	1,97	0,00	0,00	0,10	Tb/Y	2,66	1,01	1,03	0,26
La	2,18	1,43	1,49	1,80	Ce/Gd	0,98	0,00	2,03	0,40	Eu/Gd	0,16	0,08	1,15	0,07	Dy/Y	2,24	1,37	1,02	0,25
Ce	5,01	3,56	1,70	2,50	Ce/Tb	0,76	0,00	2,09	0,40	Eu/Tb	0,10	0,13	1,01	0,06	Ho/Y	1,36	0,88	1,05	0,27
Pr	3,54	2,79	1,56	2,20	Ce/Dy	0,78	0,00	2,11	0,40	Sr/Ca	2,11	3,74	0,06	0,17	Er/Y	1,05	1,05	1,04	0,27
Nd	3,64	2,88	1,52	2,19	Ce/Ho	0,85	0,00	2,09	0,40	Sr/Rb	1,33	2,71	0,13	0,19	Tm/Y	0,69	0,50	1,07	0,27
Sm	4,07	3,25	0,42	0,45	Ce/Er	0,90	0,00	2,07	0,40	Sr/Ba	0,83	1,54	0,34	0,29	Yb/Y	0,39	0,18	1,14	0,31
Eu	1,31	3,18	0,36	0,31	Ce/Tm	0,70	0,00	1,95	0,39	Sr/Y	0,13	1,49	0,45	0,01	Lu/Y	0,20	0,10	1,15	0,32
Gd	3,45	3,36	0,44	0,38	Ce/Yb	0,65	0,00	1,97	0,41	Sr/Cu	1,78	1,69	0,19	0,02	Diff Gd - Lu	3,40	3,32	0,44	0,38
Tb	3,91	3,71	0,45	0,40	Ce/Lu	0,74	0,00	1,84	0,40	Sr/Zn	2,07	1,63	0,23	0,14	Diff Pr - Eu	3,24	2,66	1,72	2,00
Dy	3,97	3,93	0,44	0,41	Pr/Sm	0,04	0,00	1,96	0,25	Sr/Pb	1,44	1,92	0,00	0,37	Diff La-Ce	5,76	2,56	1,56	2,20
Ho	3,99	4,07	0,42	0,42	Pr/Eu	0,01	0,02	2,00	0,39	Sr/La	0,03	1,23	0,50	0,04	Diff Ce - Pr	5,16	3,50	1,70	2,51
Er	4,17	4,17	0,40	0,44	Pr/Gd	0,25	0,00	2,06	0,41	Sr/Ce	0,01	1,32	0,46	0,04	Diff La - Eu	2,11	1,38	1,53	1,78
Tm	4,45	3,99	0,36	0,48	Pr/Tb	0,02	0,00	2,06	0,40	Sr/Pr	0,03	1,29	0,51	0,03	Mw L - Mw S	3,97	2,84	1,68	2,27
Yb	4,34	3,94	0,38	0,47	Pr/Dy	0,01	0,01	2,14	0,40	Sr/Nd	0,03	1,33	0,51	0,03	MwL/MwS	0,33	0,01	2,17	0,47
Lu	4,25	3,85	0,34	0,49	Pr/Ho	0,02	0,01	2,09	0,40	Sr/Eu	0,07	1,51	0,48	0,20	Cu/Ba	1,16	1,01	0,01	0,38
Th	3,86	11,72	0,27	0,47	Pr/Er	0,01	0,02	2,09	0,40	Sr/Sm	0,04	1,36	0,61	0,15	Cu/Th	1,90	1,99	0,19	0,64
Yb/Th	1,32	0,88	0,01	0,16	Pr/Tm	0,00	0,01	1,93	0,38	Sr/Gd	0,07	1,37	0,60	0,21	Cu/U	1,73	2,38	0,01	0,47
Ca	0,59	1,66	0,66	0,42	Pr/Yb	0,00	0,00	1,96	0,40	Sr/Tb	0,06	1,33	0,60	0,20	Rb/U	0,05	1,16	0,17	0,04
Sr	1,22	2,05	0,01	0,31	Pr/Lu	0,01	0,00	1,83	0,38	Sr/Dy	0,06	1,34	0,61	0,21	Ba/Zn	0,17	1,73	0,36	0,07
Ba	0,17	3,00	0,05	0,08	Nd/Sm	0,04	0,00	1,93	0,25	Sr/Ho	0,09	1,36	0,57	0,21	Ba/Pb	0,16	1,62	0,08	0,07
U	6,04	1,85	0,17	0,43	Nd/Eu	0,00	0,05	1,97	0,38	Sr/Er	0,09	1,36	0,58	0,21	Zn/Th	0,92	1,64	0,58	0,11
La/Sm	0,29	0,93	1,93	0,15	Nd/Gd	0,53	0,00	2,02	0,40	Sr/Tm	0,09	1,42	0,51	0,21	Zn/U	0,62	1,22	0,11	0,28
La/Eu	0,17	0,01	1,94	0,21	Nd/Tb	0,05	0,00	2,03	0,40	Sr/Lu	0,08	1,47	0,49	0,21	MwL/MwS ohne Ce	0,01	0,03	2,08	0,50
La/Gd	0,06	0,02	2,03	0,31	Nd/Dy	0,03	0,03	2,10	0,40	Sr/Lu	0,10	1,50	0,33	0,19	MwL/MwS ohne LaCe	0,43	0,01	2,09	0,64
La/Ho	0,09	0,03	1,99	0,34	Nd/Ho	0,04	0,02	2,06	0,40	Y/Cu	1,64	0,58	0,44	0,41					
La/Tm	0,09	0,04	1,72	0,32	Nd/Er	0,03	0,04	2,06	0,40	Ce/Y	2,08	0,03	0,04	0,09					
La/Yb	0,08	0,02	1,73	0,28	Nd/Tm	0,01	0,01	1,90	0,38	Pr/Y	1,47	0,32	1,34	1,00					
La/Lu	0,06	0,02	1,62	0,29	Nd/Yb	0,00	0,00	1,94	0,39	Nd/Y	1,83	0,48	1,23	1,14					
Ce/Sm	0,42	0,00	1,98	0,25	Nd/Lu	0,01	0,00	1,80	0,38	Sm/Y	2,92	0,48	0,92	0,07					
Pb/Th	0,78	1,69	0,21	0,44	Sm/Eu	0,00	0,06	1,78	0,07	Gd/Y	1,72	0,81	1,00	0,26					

Tabelle 19: Fisher-Verhältnis für den binären Ländervergleich China/Russland (CHN/RUS)

CHN/RUS	2007	2008	2009	070809	CHN/RUS	2007	2008	2009	070809	CHN/RUS	2007	2008	2009	070809	CHN/RUS	2007	2008	2009	070809					
Y	6,69	6,65	1,96	3,32	La/Lu	2,77	0,03	2,22	0,47	Sm/Eu	0,26	0,44	1,72	0,17	Ho/Ca	5,84	1,15	0,75	0,00	Gd/Y	1,57	0,37	1,11	0,28
La	6,83	4,10	1,79	3,06	Ce/Sm	0,15	0,05	2,28	0,23	Sm/Gd	1,89	0,01	0,23	0,17	Er/Ca	6,00	1,30	0,76	0,00	Dy/Y	1,91	1,64	1,14	0,28
Ce	6,31	4,00	1,55	2,51	Ce/Eu	0,44	0,02	2,37	0,40	Sm/Dy	1,08	0,18	0,01	0,16	Tm/Ca	5,99	1,15	0,74	0,01	Ho/Y	0,14	1,11	1,17	0,29
Pr	6,68	6,01	1,67	2,85	Ce/Gd	0,50	0,05	2,38	0,39	Sm/Ho	2,59	0,15	0,09	0,19	Yb/Ca	6,06	1,12	0,73	0,01	Er/Y	0,22	1,77	1,22	0,30
Nd	6,50	5,90	1,61	2,77	Ce/Tb	0,34	0,07	2,37	0,37	Sm/Er	3,06	0,10	0,09	0,19	Lu/Ca	6,06	1,12	0,73	0,01	Tm/Y	0,08	0,62	1,26	0,32
Sm	6,49	6,54	0,74	0,52	Ce/Dy	0,44	0,08	2,49	0,38	Sm/Tm	2,89	0,01	0,23	0,20	Th/Ca	5,50	2,07	0,52	0,01	Yb/Y	0,06	0,24	1,32	0,34
Eu	1,54	6,13	0,71	0,21	Ce/Ho	0,95	0,08	2,44	0,39	Sm/Yb	2,83	0,01	0,26	0,20	U/Ca	6,39	2,75	0,84	0,05	Lu/Y	0,01	0,04	1,28	0,35
Gd	6,40	7,12	0,77	0,21	Ce/Er	1,09	0,08	2,50	0,40	Sm/Lu	3,45	0,06	0,64	0,21	Ba/Ca	0,17	2,08	0,54	0,05	Diff Gd - Lu	6,40	7,10	0,77	0,20
Tb	6,45	7,93	0,78	0,21	Ce/Tm	1,23	0,06	2,35	0,39	Gd/Er	1,38	0,28	0,02	0,00	Sr/Ca	1,28	3,32	1,27	0,00	Diff Pr - Eu	6,86	5,83	1,98	2,62
Dy	6,24	7,96	0,79	0,20	Ce/Yb	1,33	0,05	2,36	0,40	Gd/Tm	1,16	0,02	0,17	0,00	Y/Ca	6,54	1,03	0,83	0,70	Diff La-Ce	5,39	1,74	1,18	1,73
Ho	5,99	8,64	0,78	0,22	Ce/Lu	1,89	0,04	2,17	0,39	Gd/Yb	1,03	0,01	0,19	0,00	Zn/Ca	0,04	1,05	0,36	0,00	Diff Ce - Pr	6,25	3,64	1,52	2,44
Er	6,08	7,74	0,81	0,22	Pr/Sm	1,25	0,04	2,24	0,27	Gd/Lu	1,55	0,06	0,58	0,01	Sr/Rb	0,81	2,43	1,12	0,00	Diff La - Eu	7,04	4,02	1,86	3,07
Tm	6,19	7,16	0,79	0,24	Pr/Eu	0,65	0,26	2,33	0,48	Tb/Ho	1,76	0,03	0,03	0,03	Sr/Y	0,50	0,80	2,22	0,33	Mw L - Mw S	6,53	4,87	1,72	2,75
Yb	5,97	7,10	0,82	0,24	Pr/Gd	4,18	0,04	2,33	0,47	Tb/Er	2,87	0,01	0,04	0,04	Sr/Cu	0,59	1,50	1,17	0,05	MwL/MwS	2,03	0,05	2,50	0,52
Lu	5,89	6,99	0,73	0,28	Pr/Tb	2,36	0,00	2,32	0,46	Tb/Tm	2,57	0,05	0,24	0,01	Sr/Zn	1,02	1,52	1,21	0,01	Cu/Ba	1,16	1,12	1,13	0,21
Th	4,01	12,61	0,69	0,18	Pr/Dy	2,63	0,00	2,43	0,47	Tb/Yb	2,08	0,20	0,25	0,02	Sr/Pb	0,36	1,71	0,38	0,05	Cu/Pb	0,09	0,05	1,00	0,08
Yb/Th	4,66	2,41	0,40	0,05	Pr/Ho	3,44	0,00	2,38	0,47	Dy/Ho	1,31	0,00	0,28	0,02	Sr/La	0,68	0,62	2,07	0,41	Cu/Th	1,82	4,06	1,19	0,57
La/Tb	1,20	0,00	0,47	0,00	Pr/Er	4,06	0,00	2,45	0,49	Dy/Er	3,24	0,03	0,27	0,02	Sr/Ce	0,55	0,63	1,56	0,36	Cu/U	2,58	7,57	1,89	0,43
La/Dy	1,28	0,01	0,77	0,23	Pr/Tm	4,08	0,01	2,31	0,48	Dy/Tm	1,84	0,23	0,57	0,00	Sr/Pr	0,68	0,63	2,31	0,43	Rb/Ba	0,28	1,86	0,66	0,02
Tb/Lu	3,34	0,32	0,78	0,08	Pr/Yb	3,47	0,04	2,33	0,50	Dy/Yb	1,74	0,58	0,53	0,01	Sr/Nd	0,62	0,67	2,30	0,41	Rb/Th	2,04	2,71	0,50	0,22
La/Er	2,34	0,00	2,11	0,00	Pr/Lu	3,98	0,08	2,12	0,48	Dy/Lu	2,21	0,62	1,05	0,00	Y/Rb	3,78	2,09	0,21	0,25	Rb/U	0,86	3,28	0,46	0,10
88 Sr	0,21	1,82	0,90	0,08	Nd/Sm	0,53	0,15	2,18	0,27	Er/Lu	0,65	1,01	0,98	0,02	Y/Cu	5,34	3,40	0,57	0,58	Ba/Zn	0,18	2,58	0,49	0,06
137 Ba	0,14	2,79	0,41	0,06	Nd/Eu	0,47	0,77	2,26	0,46	La/Ca	6,39	0,74	1,10	0,92	Y/Zn	6,83	5,65	0,27	0,62	Ba/Pb	0,14	2,43	0,49	0,07
238 U	8,70	1,84																						

Tabelle 20: Fisher-Verhältnis für den binären Ländervergleich Russland/andere (RUS/andere)

RUS/andere	2007	2008	2009	070809	RUS/andere	2007	2008	2009	070809	RUS/andere	2007	2008	2009	070809
Y	1,59	1,67	0,15	0,38	Pr/Ho	1,14	0,00	0,40	0,18	Sr/Ho	0,90	0,01	1,02	0,95
La	1,70	1,15	0,24	0,43	Nd/Eu	1,16	0,62	0,43	0,21	Sr/Er	0,86	0,01	1,05	0,95
Ce	1,37	1,07	0,04	0,11	Nd/Ho	1,07	0,00	0,37	0,16	Sr/Tm	0,83	0,01	1,10	0,94
Pr	1,71	1,68	0,16	0,34	Tb/Ho	1,17	0,00	0,00	0,05	Sr/Yb	0,81	0,01	1,09	0,92
Nd	1,66	1,73	0,14	0,32	Dy/Ho	1,13	0,00	0,15	0,01	Sr/Lu	0,76	0,02	1,05	0,86
Sm	1,56	1,76	0,66	0,11	Pr/Ca	0,42	0,31	1,06	0,76	Y/Ba	0,26	0,08	1,01	0,55
Eu	0,87	1,57	0,68	0,00	Nd/Ca	0,41	0,31	1,01	0,74	Y/Cu	1,67	1,36	0,08	0,14
Gd	1,58	1,72	0,66	0,00	Th/Ca	1,06	0,63	0,10	0,02	Y/Zn	1,17	0,90	0,46	0,70
Tb	1,58	1,90	0,67	0,00	Sr/Ca	0,16	1,11	2,94	0,40	Y/Pb	1,21	1,14	0,99	0,88
Dy	1,54	1,97	0,71	0,01	Cu/Ca	0,26	0,10	1,38	0,52	Diff Gd - Lu	1,58	1,69	0,66	0,00
Ho	1,44	1,97	0,70	0,01	Sr/Rb	0,16	1,14	2,05	0,32	Diff Pr - Eu	1,80	1,68	0,33	0,43
Er	1,45	1,99	0,77	0,01	Sr/Ba	0,70	0,04	1,99	1,24	Diff Ce - Pr	1,31	0,96	0,03	0,09
Tm	1,42	1,97	0,78	0,01	Sr/Y	0,90	0,03	2,86	1,11	Diff La - Eu	1,71	1,13	0,28	0,46
Yb	1,43	2,06	0,79	0,01	Sr/Cu	0,02	0,97	1,89	0,35	Mw L - Mw S	1,60	1,40	0,12	0,27
Lu	1,40	2,00	0,70	0,00	Sr/Zn	0,09	1,17	1,81	0,25	Cu/Th	0,47	1,07	0,61	0,07
Th	0,99	2,07	0,83	0,04	Sr/Pb	0,00	1,01	1,10	0,24	Cu/U	0,26	0,48	1,28	0,00
Tb/Lu	0,02	0,07	1,01	0,00	Sr/La	1,00	0,02	2,50	0,99	Rb/Th	1,79	1,24	0,02	0,36
La/Er	0,48	0,03	1,74	0,03	Sr/Ce	0,76	0,01	1,85	0,86	Rb/U	0,99	1,31	0,19	0,13
Ca	0,45	0,00	1,28	0,50	Sr/Pr	1,01	0,01	2,81	1,11	Ba/Zn	0,18	1,59	0,38	0,00
Sr	0,01	1,03	2,46	0,29	Sr/Nd	0,92	0,01	2,82	1,10	Ba/Pb	0,12	1,07	0,49	0,00
U	0,87	1,48	1,25	0,15	Sr/Eu	1,12	0,04	1,15	0,96	Zn/Th	1,77	1,70	0,04	0,32
Pr/Eu	1,30	0,24	0,46	0,23	Sr/Gd	0,89	0,02	1,01	0,89	Pb/Th	0,48	1,45	0,11	0,19
Pr/Gd	1,08	0,06	0,40	0,16	Sr/Tb	0,91	0,01	1,01	0,92					

Aus den Tabelle 15 bis 20 ist gut ersichtlich, dass eine bestimmte Variable nicht in jedem Jahr eine große Diskriminierungskraft für den binären Vergleich der einzelnen Länder hat. Somit ist gezeigt, dass die einzelnen Jahre einen Einfluss auf die Klassifizierung ausüben. Dieser Einfluss der Jahre auf die Variablen wurde auch mit nachstehendem Versuch überprüft.

Von 25 Feldern österreichischer Bauern wurden Kernproben über drei Jahre (2007, 2008, 2009) gesammelt. Mittels ANOVA wurde der Effekt der einzelnen Felder der Bauern und der Jahre auf die verschiedenen Variablen bestimmt. In Tabelle xy sind die Ergebnisse der ANOVA für jene Variablen zusammengefasst, die auch ein FV über 1 im Datensatz 070809 in einem binären Ländervergleich hatten. Bei jenen Variablen, die in Tabelle 21 grau hinterlegt sind, haben weder die Felder der Bauern, noch die Jahre einen Effekt. Das sind somit die Variablen die eine geringe Varianz innerhalb

der Gruppe der Bauern zeigen, und auch eine geringe Varianz zwischen den Jahren. Bei den übrigen Variablen, ist sowohl eine größere Varianz innerhalb der Gruppe der Bauern gegeben, als auch ein Effekt der Jahre zu erwarten. Dieser Versuch konnte nur für österreichische Proben durchgeführt werden, da eine Probenahme von Feldern gleicher Bauern über drei Jahre nur in Österreich möglich war. Ob auch bei chinesischen und bei russischen Proben ein Effekt der Felder und der Jahre auf die einzelnen Variablen gegeben ist, konnte aufgrund fehlender Proben nicht bestimmt werden. Es ist aber anzunehmen, dass sich das Ergebnis der ANOVA der österreichischen Proben, auch mit den chinesischen und russischen Proben wiederholen wird.

Weiters ist festzuhalten, dass Variablen, wie zum Beispiel Sr/Ba, einen Effekt, sowohl in der Gruppe der Bauern, wie auch in den Jahren aufweisen. Sieht man sich aber das FV für diese Variable, für den Datensatz über drei Jahre, als Maß für das Unterscheidungsvermögen für Österreich/andere mit 2,35, Österreich/Russland mit 2,90, Österreich/China mit 2,07 oder Russland/andere mit 1,24 an, so zeigt sich, dass die Varianz innerhalb der Gruppe der Länder und zwischen den Jahren im Verhältnis kleiner, gegenüber jener Varianz, zwischen den Ländern sein muss.

Tabelle 21: Ergebnis ANOVA, Effekt Felder der Bauern und Jahre

	Felder der Bauern	Jahre
Y	Effekt	Effekt
La	Effekt	Effekt
Ce	Effekt	Effekt
Pr	Effekt	Effekt
Nd	Effekt	Effekt
Ca	kein Effekt	Effekt
Zn	kein Effekt	Effekt
Rb	kein Effekt	kein Effekt
Sr	kein Effekt	Effekt
Sr/Ba	Effekt	Effekt
Sr/Gd	kein Effekt	kein Effekt
Sr/Eu	kein Effekt	kein Effekt
Sr/Tb	kein Effekt	kein Effekt
Sr/Dy	Effekt	kein Effekt
Sr/Ho	Effekt	kein Effekt
Sr/Ca	Effekt	Effekt
Sr/Y	Effekt	kein Effekt
Sr/Pr	kein Effekt	kein Effekt
Sr/Nd	kein Effekt	kein Effekt
Sr/Cu	kein Effekt	Effekt
Sr/Pb	kein Effekt	kein Effekt
Sr/U	Effekt	kein Effekt
Sr/La	kein Effekt	kein Effekt
Sr/Ce	kein Effekt	kein Effekt
Sr/Sm	kein Effekt	Effekt
Sr/Er	Effekt	kein Effekt
Sr/Tm	Effekt	kein Effekt
Sr/Yb	Effekt	kein Effekt
Sr/Lu	Effekt	kein Effekt
Pr/Y	Effekt	kein Effekt
Nd/Y	Effekt	kein Effekt
Y/Pb	Effekt	kein Effekt
Mw L-MwS	Effekt	Effekt
Diff La-Eu	Effekt	Effekt
Diff Ce-Pr	Effekt	kein Effekt
Diff La-Ce	kein Effekt	kein Effekt
Diff Pr-Eu	Effekt	Effekt

Somit sind auch jene Variablen, auf welche die verschiedenen Jahre einen Effekt ausüben, durchaus zur Klassifizierung der Kürbiskernproben geeignet. Um diesen Einfluss zu berücksichtigen, wird im Folgenden eine Klassifizierung nur mit einem Datensatz über mehrere Jahre durchgeführt, wo dieser Effekt bereits berücksichtigt ist.

Tabelle 22: Variablen mit gutem Diskriminierungspotenzial bei binären Ländervergleichen

O70809	AUT/andere	CHN/andere	RUS/andere	AUT/CHN	AUT/RUS	CHN/RUS
Y		2,19		1,71		3,32
La		1,80		1,31		3,06
Ce		2,50		2,51		2,51
Pr		2,20		1,86		2,85
Nd		2,19		1,87		2,77
Ca	1,35			2,42	1,01	
Zn	1,08			1,53		
Rb					1,14	
Sr					1,18	
Nd/Y		1,14		1,20		1,39
Sr/Ca				1,78		
Sr/Ba	2,53		1,24	2,07	2,90	
Sr/Cu				1,19		
Sr/Pb				1,31		
Sr/U				1,44		
Sr/Eu	1,73			1,19	2,35	
Sr/Gd	1,68			1,29	2,04	
Sr/Tb	1,71			1,31	2,07	
Sr/Dy	1,74			1,36	2,07	
Sr/Ho	1,79			1,39	2,15	
Sr/Er	1,78			1,37	2,17	
Sr/Tm	1,74			1,32	2,15	
Sr/Sm	1,06				1,58	
Sr/Yb	1,72			1,34	2,05	
Sr/Lu	1,60			1,34	1,80	
Sr/Y			1,11		1,46	
Sr/Pr			1,11		1,37	
Sr/Nd			1,10		1,37	
Sr/La					1,21	
Sr/Ce					1,04	
Diff Pr - Eu		2,00		1,63		2,62
Diff La - Ce		2,20		2,78		1,73
Diff Ce - Pr		2,51		2,57		2,44
Diff La - Eu		1,78		1,28		3,07
Mw L - Mw S		2,27		2,00		2,75
Pr/Y		1,00				1,05
Y/Pb						1,77

8.3.1 Hauptkomponentenanalyse (PCA)

Das Hauptaugenmerk liegt auf der Trennung der österreichischen Kürbiskernproben von denen aus China und Russland. Zur weiteren Verarbeitung der Daten und zur Erstellung eines Modells zur Identifizierung der geographischen Herkunft der Kürbiskernproben, wird das Statistikprogramm UNSCRAMBLER X 10.1 verwendet.

Als erstes wird mit jenen Variablen, die ein gutes Diskriminierungspotenzial bei den binären Ländervergleichen (Tabelle 22) aufgezeigt hatten, eine PCA durchgeführt. Alle Variablen, die die gleiche Information enthalten, werden in Hauptkomponenten zusammengefasst, somit wird eine Datenreduktion erlangt. Variablen mit Informationsgehalt werden von jenen ohne Informationsgehalt getrennt. In Abbildung 23 ist der Score-Plot der PCA Österreich, China, Russland für die Variablen in Tabelle 22 gezeigt. Man sieht sofort, dass es eine Einteilung in drei Gruppen gibt. Mit den ursprünglichen Variablen war es möglich, latente Variable zu erzeugen, die die Proben in drei Gruppen einteilen, welche mit der geographischen Herkunft (Österreich, China, Russland) korrelieren.

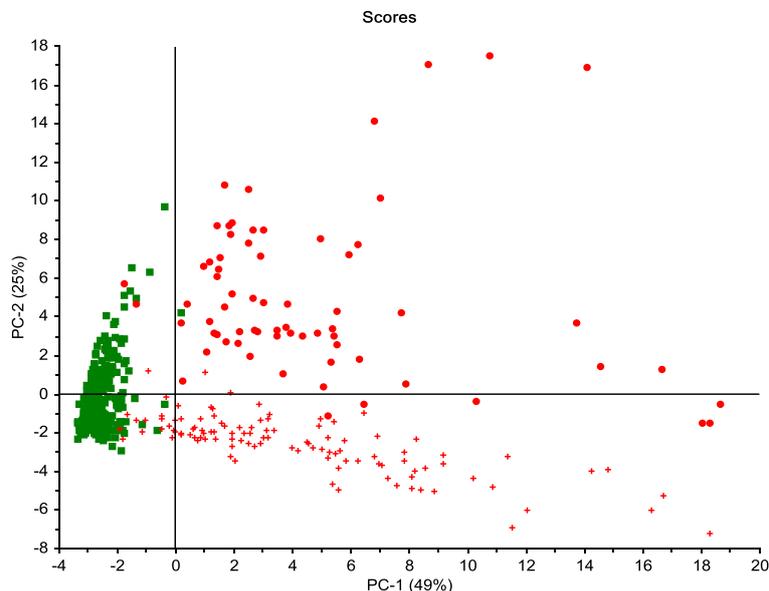


Abbildung 23: Score-Plot PCA Österreich (grüne Vierecke) , China (rote Punkte) , Russland (rote Kreuze) mit PC-1 und PC-2

Zum Score- Plot in Abbildung 23 gehört der Korrelation-Loading-Plot aus Abbildung 24, dieser zeigt die Korrelation zwischen den Originalvariablen und den zu den Hauptkomponenten berechneten Scorewerten.

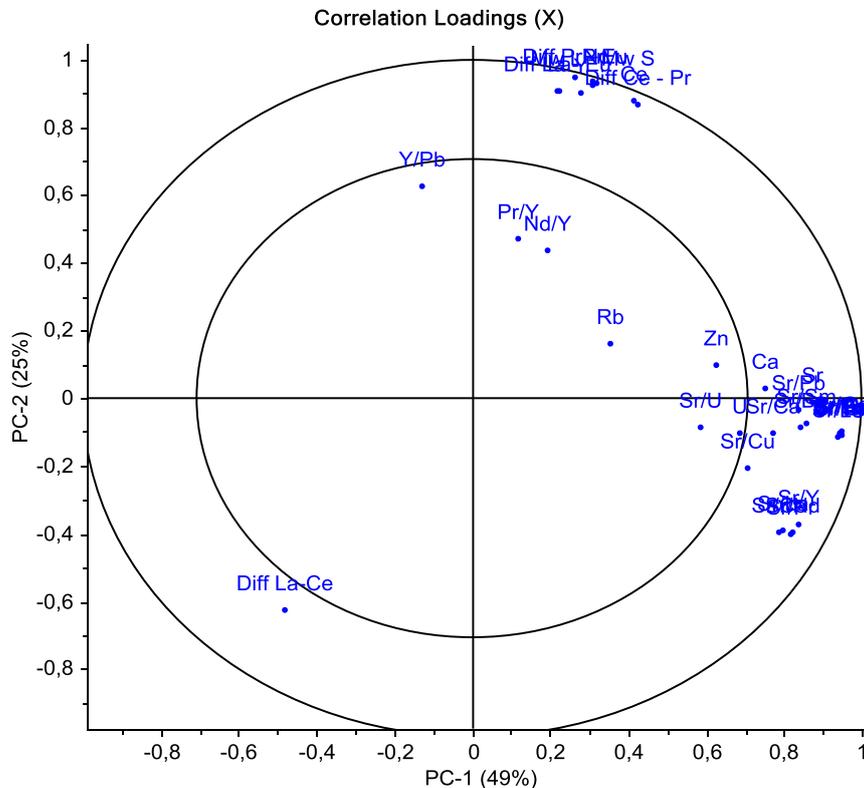


Abbildung 24: Korrelations-Loading-Plot für die PCA Österreich, China, Russland für PC-1 und PC-2

Die Kreise im Korrelation-Loading-Plot in Abbildung 24 entsprechen der relativen erklärten Varianz der Variablen, der innere Kreis gleicht einer relativen erklärten Varianz der Variablen durch die dargestellten Hauptkomponenten von 50%, der äußere Kreis entspricht 100%. Die Originalvariablen Y/Pb, Pr/Y, Nd/Y, Rb, Zn, Sr/U und U tragen somit nicht sehr viel zur Gesamtvarianz bei und sind auch nicht sehr stark zu den beiden Hauptkomponenten PC-1 und PC-2 korreliert. Jene Variablen, wie Y, La, Ce, Pr, Nd, Ca, Sr, Sr/Ba, Sr/Gd, Sr/Eu, Sr/Tb, Sr/Dy, Sr/Ho, Sr/Ca, Sr/Y, Sr/Pr, Sr/Nd, Sr/Cu, Sr/Pb, Sr/La, Sr/Ce, Sr/Sm, Sr/Er, Sr/Tm, Sr/Yb, Sr/Lu, Mw L-Mw S (Mittelwert leichte SEE - Mittelwert schwere SEE), Diff La-Eu, Diff Ce-Pr, Diff La-Ce,

Diff Pr-Eu, die sich zwischen den zwei äußeren Kreisen befinden tragen sehr viel zur Gesamtvarianz bei und sind sehr stark mit PC-1 und PC-2 korreliert.

Im Scoreplot Abbildung 25 sieht man, dass PC-3 auch 8% zur Gesamtvarianz beiträgt, der dazugehörige Korellation-Loading Plot Abbildung 26 zeigt, dass hier auch die Variablen Zn, Sr/U und U wichtig sind und in den Bereich der äußeren zwei Kreise fallen und mit PC-3 korrelieren. Die Variablen Sr/Cu, Sr/Ca, Sr/Pb sowie Ca werden ebenfalls zu einem beträchtlichen Teil durch PC-3 beschrieben. Bei diesen Variablen trägt PC-2 nichts zur Beschreibung bei.

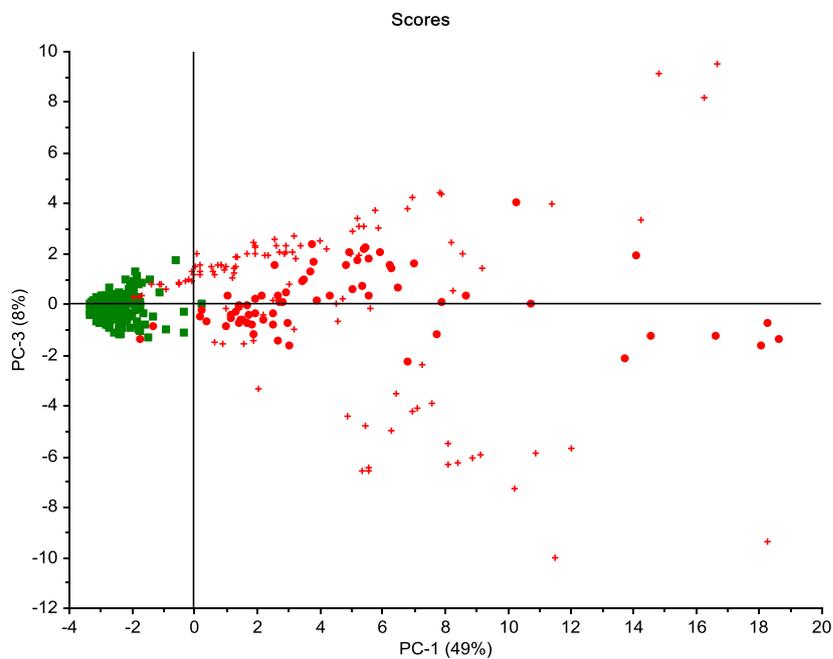


Abbildung 25: Score-Plot PCA Österreich (grüne Viereck) , China (rote Punkte) , Russland (rote Kreuze) mit PC-1 und PC-3

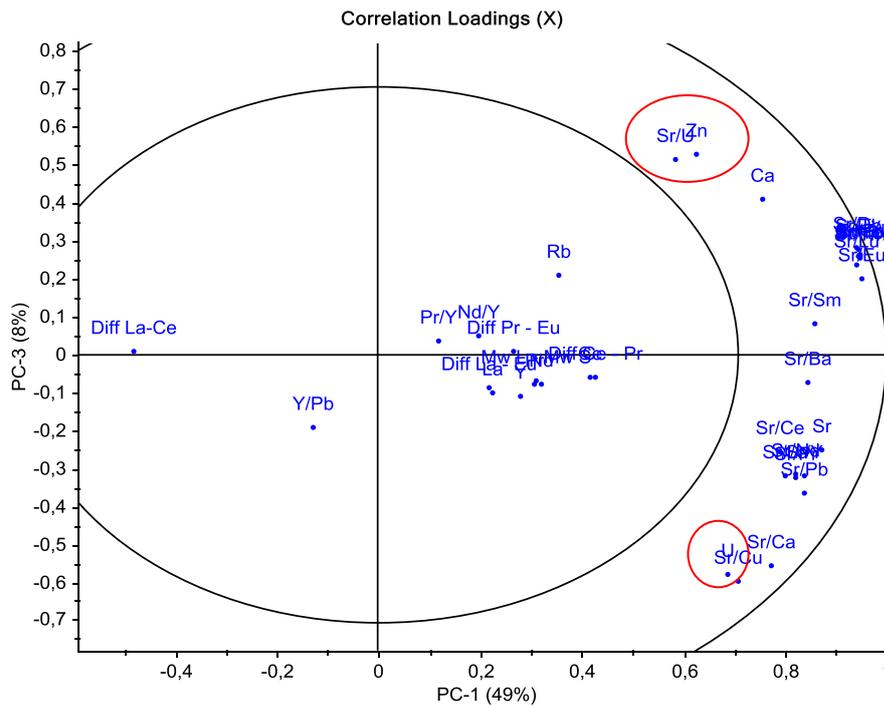


Abbildung 26: Korrelations-Loading-Plot für die PCA Österreich, China, Russland für PC-1 und PC-3

Durch die Quadrierung der Korrelationen erhält man für jede Variable und jede Hauptkomponente den relativen erklärten Anteil. In Tabelle 23 sind alle Variablen mit den Korrelationen zwischen den Originalvariablen und den zu den Hauptkomponenten berechneten Scorewerten, mit den erklärten Varianzen durch die Hauptkomponente für das Datenset der 482 extrahierten Kürbiskernöle aufgelistet. Diese PCA wurde bereits ohne die Variablen Y/Pb, Pr/Y, Nd/Y, Rb berechnet, die, wie oben gezeigt, nicht sehr viel zur Gesamtvarianz beitragen.

Tabelle 23: Korrelation, erklärte Varianzen

Variable	Korrelation			erklärte Varianz [%]			
	PC-1	PC-2	PC-3	PC-1	PC-2	PC-3	Gesamt
La	0,1950	0,9093	-0,1173	4	83	1	88
Ce	0,3837	0,8981	-0,0922	15	81	1	96
Pr	0,2753	0,9457	-0,1022	8	89	1	98
Nd	0,2876	0,9395	-0,1006	8	88	1	98
Ca	0,7485	0,0699	0,3979	56	0	16	72
Zn	0,6181	0,1464	0,5177	38	2	27	67
Sr	0,8714	0,0163	-0,2531	76	0	6	82
U	0,6919	-0,0913	-0,5835	48	1	34	83
Sr/Ca	0,7766	-0,0908	-0,5544	60	1	31	92
Sr/Ba	0,8464	-0,0577	-0,0690	72	0	0	72
Sr/Y	0,8498	-0,3530	-0,3079	72	12	9	94
Sr/Cu	0,7175	-0,1977	-0,5907	51	4	35	90
Sr/Pb	0,8398	-0,0137	-0,3577	71	0	13	83
Sr/U	0,5857	-0,0526	0,5221	34	0	27	62
Sr/La	0,8140	-0,3744	-0,3084	66	14	10	90
Sr/Ce	0,8037	-0,3801	-0,2417	65	14	6	85
Sr/Pr	0,8339	-0,3813	-0,3092	70	15	10	94
Sr/Nd	0,8366	-0,3778	-0,3030	70	14	9	93
Sr/Eu	0,9535	-0,0693	0,2093	91	0	4	96
Sr/Sm	0,8609	-0,0413	0,0923	74	0	1	75
Sr/Gd	0,9505	-0,0580	0,2734	90	0	7	98
Sr/Tb	0,9469	-0,0607	0,2902	90	0	8	98
Sr/Dy	0,9455	-0,0630	0,2929	89	0	9	98
Sr/Ho	0,9488	-0,0617	0,2705	90	0	7	98
Sr/Er	0,9493	-0,0648	0,2753	90	0	8	98
Sr/Tm	0,9506	-0,0691	0,2657	90	0	7	98
Sr/Yb	0,9497	-0,0696	0,2720	90	0	7	98
Sr/Lu	0,9441	-0,0780	0,2493	89	1	6	96
Diff Pr - Eu	0,2315	0,9541	-0,0136	5	91	0	96
Diff La - Ce	-0,4555	-0,6556	0,0456	21	43	0	64
Diff Ce - Pr	0,3940	0,8858	-0,0904	16	78	1	95
Diff La - Eu	0,1858	0,9114	-0,1018	3	83	1	88
Mw L - Mw S	0,2758	0,9380	-0,0978	8	88	1	97

Diese Variablen aus Tabelle 23 werden verwendet, um ein PLS Modell zu berechnen, welches weiter zur Identifizierung österreichischer, extrahierter Kürbiskernölproben dienen soll.

8.3.2 PLS-Modell – Vorhersage unbekannter extrahierter Kürbiskernölproben

Als y-Variable des PLS-Modells geht die geographische Herkunft der Proben ein. Mit Faktor 1 und Faktor 2 des PLS-Modelles Österreich/andere (Abbildung 27) werden 65 % der geographischen Herkunft beschrieben.

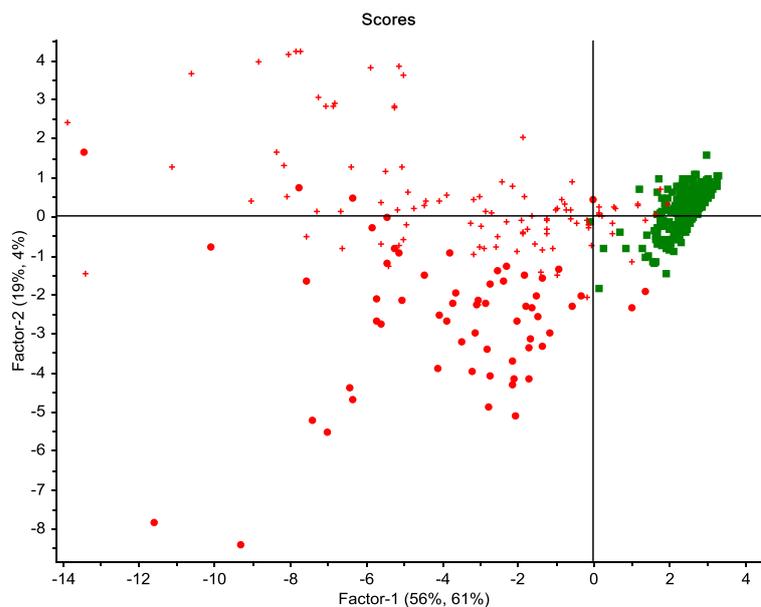


Abbildung 27: PLS-Modell Österreich/andere, Österreich (grüne Viereck) , China (rote Punkte) , Russland (rote Kreuze)

Das PLS-Modell Österreich/andere wird kreuzvalidiert, und hat einen RMSEC von 0,43 und einen RMSEP von 0,44. Sieht man sich den Korrelations-Loading-Plot des PLS-Modelles Österreich/andere (Abbildung 28) an, sieht man, dass die Variablen Diff La-Eu und La in den inneren Kreis fallen und nicht mehr sehr wichtig für das Modell

kunft der 5 extrahierten russischen Kürbiskernöle wurde gänzlich richtig prognostiziert. Bei den 23 extrahierten österreichischen Kürbiskernölen fällt die Probe (AUTunbekannt14) genau an die Grenze zwischen Österreich und Ausland. Eine eindeutige Zuordnung zu Österreich oder Ausland kann für diese Probe nicht getroffen werden. Die übrigen 22 extrahierten österreichischen Kürbiskernöle werden eindeutig zu Österreich zugeordnet.

Mit diesem Modell konnte von den 41 Proben für 95 % die richtige geographische Herkunft vorhergesagt werden.

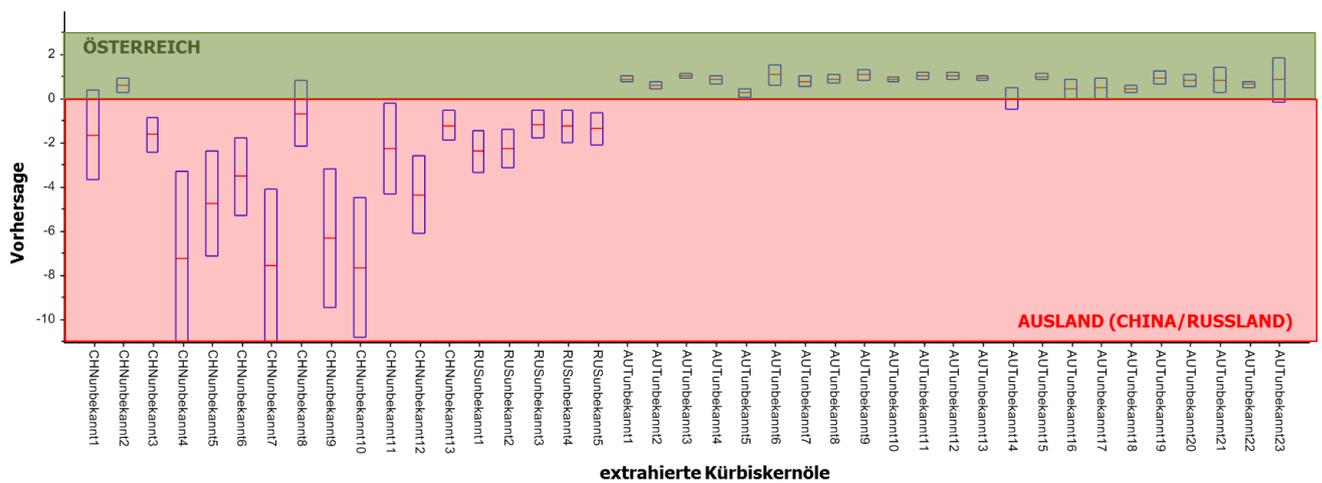


Abbildung 29: Vorhersage unbekannter extrahierter Kürbiskernöle, Grundlage PLS-Modell Österreich/andere

9 Anpassung der Methode für kommerzielle Kürbiskernöle – Einsatz in der Praxis

Ziel dieser Arbeit war es letztendlich, ein Modell zur Bestimmung der geographischen Herkunft zu erstellen, mit dem es möglich ist, kommerziell erhältliche Kürbiskernöle zu klassifizieren.

Zur Erstellung des Klassifizierungsmodelles und zur Überprüfung der geographischen Herkunft von handelsüblichen, gepressten Kürbiskernölen, wurden auf Bauernmärkten, in Großmärkten und Diskontern Öle unterschiedlicher Herkunft und Qualität erworben. Authentische Öle wurden außerdem von der Fa. F. Url, von der AGES (Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit) sowie vom Institut Dr. Wagner (Lebring) zur Verfügung gestellt.

9.1 Klassifizierungsmodell gepresstes Kürbiskernöl

Zur Erstellung des PLS-Modells wurden 88 gepresste Kürbiskernöle aus Österreich und 60 gepresste Öle aus dem Ausland (China, Russland) verwendet. Das Klassifizierungsmodell wurde nach der gleichen Vorgehensweise, wie in 8.3. Statistische Auswertung/Datenbank beschrieben, erstellt. Das PLS-Modell besteht aus folgenden Variablen: Y, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, Ca, Zn, Rb, Sr, Y, Ba, U, La/Pr, Ce/Gd, Nd/Gd, Sm/Eu, Sm/Gd, La/Ca, Pr/Ca, Nd/Ca, Sm/Ca, Eu/Ca, Gd/Ca, Tb/Ca, Dy/Ca, Ho/Ca, Er/Ca, Tm/Ca, Yb/Ca, Lu/Ca, U/Ca, Ba/Ca, Sr/Ca, Y/Ca, Sr/Rb, Sr/Ba, Sr/Y, Sr/Cu, Sr/Zn, Sr/Pb, Sr/Th, Sr/U, Sr/La, Sr/Ce, Sr/Pr, Sr/Nd, Sr/Eu, Sr/Sm, Sr/Gd, Sr/Tb, Sr/Dy, Sr/Ho, Sr/Er, Sr/Tm, Sr/Yb, Sr/Lu, Y/Rb, Y/Ba, Y/Cu, Y/Pb, Y/Th, Y/U, Ce/Y, Pr/Y, Nd/Y, Sm/Y, Gd/Y, Tb/Y, Dy/Y, Ho/Y, Er/Y, Tm/Y, Yb/Y, Lu/Y, Diff Gd – Lu, Diff Pr – Eu, Diff La-Ce, Diff Ce – Pr, Mw L - Mw S (Mittel-

wert leichte SEE - Mittelwert schwere SEE), Cu/U, Rb/Ba, Rb/Th, Rb/U, Ba/Zn, Zn/Th, Zn/U, Y/Zn.

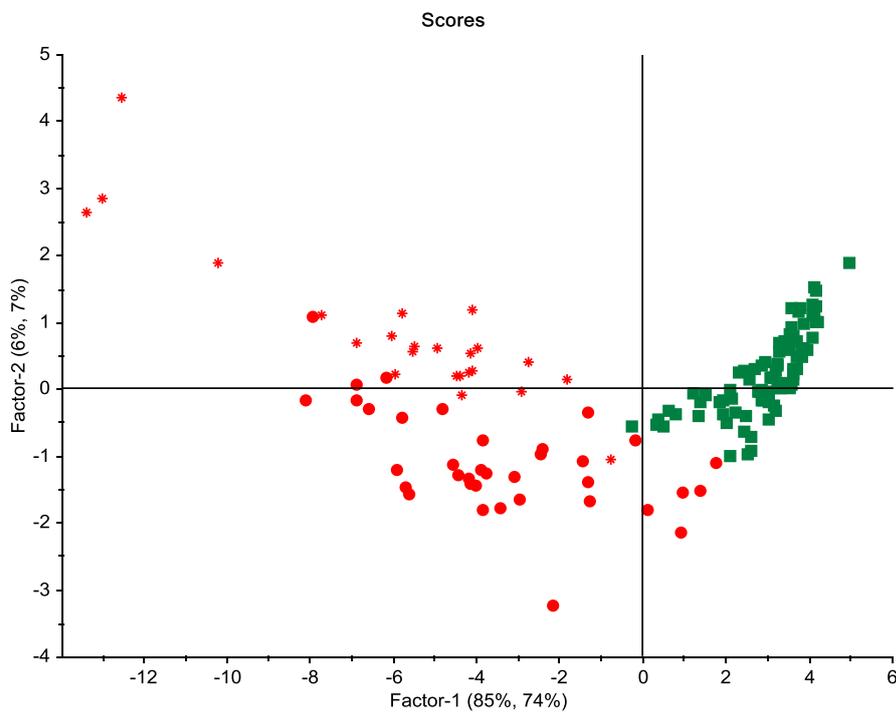


Abbildung 30: PLS-Modell Österreich/Ausland, Österreich (grüne Viereck) , China (rote Punkte) , Russland (rote Sterne)

Das PLS-Modell Österreich/Ausland, wurde von der AGES mit gepressten Kernölen sicherer Herkunft geprüft. Die Ergebnisse aus diesem Test sind in der Tabelle 24 und Abbildung 32 zusammengefasst. Die reinen österreichischen und reinen ausländischen Öle wurden zu 100 % richtig ihrer geographischen Herkunft nach zugeordnet. Die Mischungen aus ausländischen (10 und 5 %) und österreichischen Ölen wurden mit dieser Methode aber nicht als solche erkannt. Die Methode ist nicht empfindlich genug, um solche geringe Beimischungen von fremden Ölen zu erkennen.

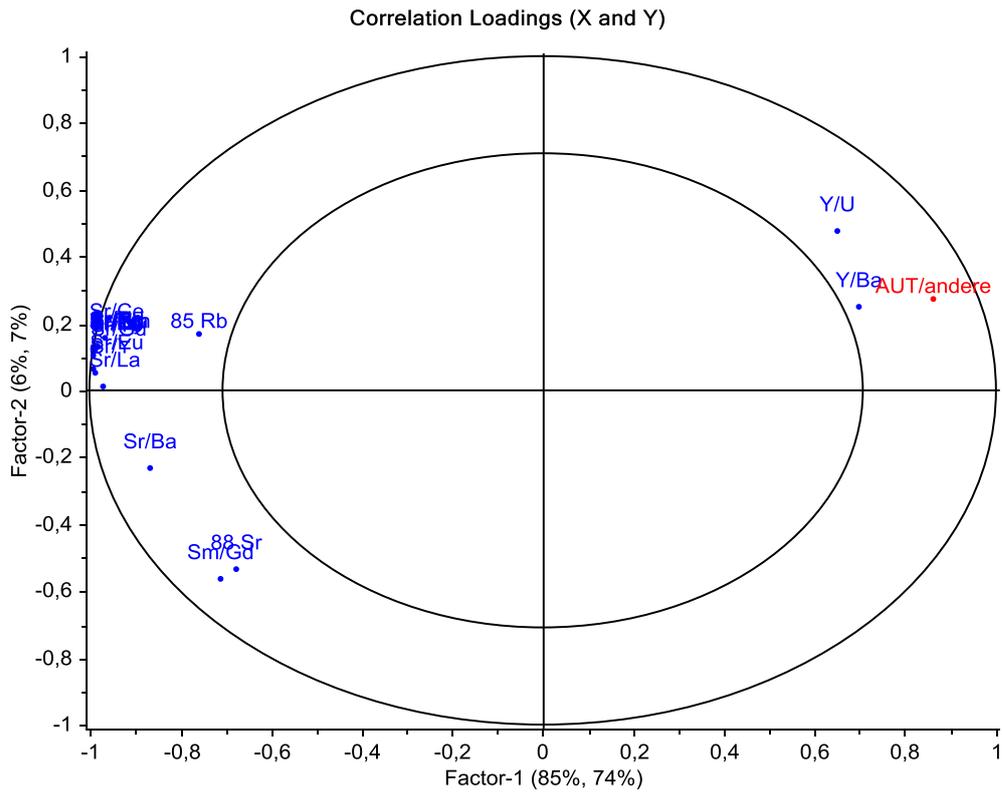


Abbildung 31: Korrelations-Loading-Plot des PLS-Modelles Österreich/Ausland

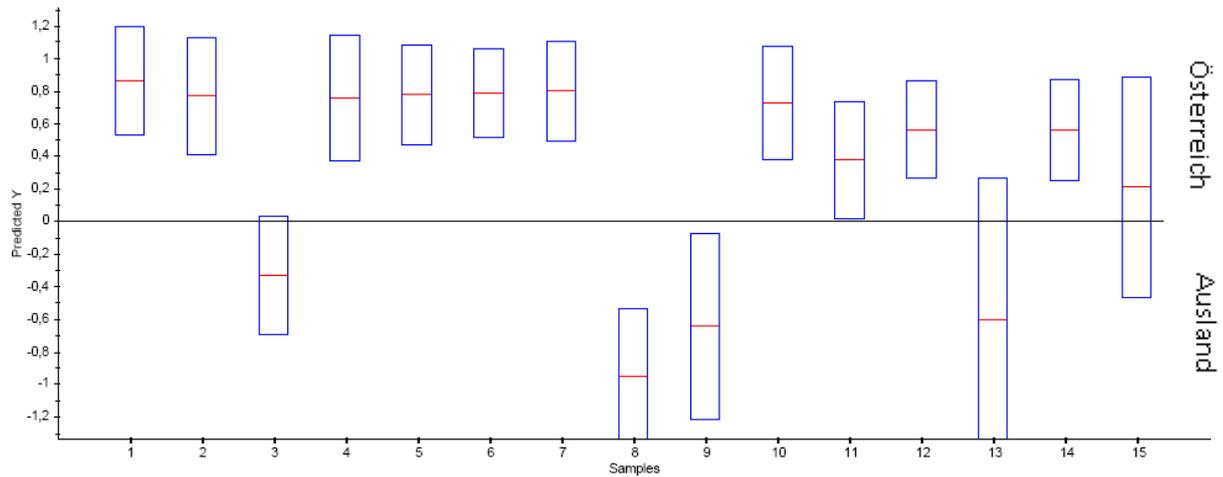


Abbildung 32: Vorhersage der 15 unbekanntem gepressten Kernöle sicherer Herkunft von AGES mit dem Modell Österreich/Ausland.

**Tabelle 24: Vorhersage der Herkunft der Öle von Ages mit dem Modell Österreich (AUT)-
Ausland**

	Bezeichnung	Herkunft laut amtlichem Probenbegleitschreiben	Analysenergebnis	Bewertung
1	11120706 TP01	Österreich (Niederösterreich)	Österreich	richtig
2	11120706 TP02	10 % China	Österreich	falsch
3	11120707 TP01	China	Ausland	richtig
4	11120707 TP02	10 % China	Österreich	falsch
5	11120707 TP03	5 % China	Österreich	falsch
6	11120708 TP01	Österreich (Steiermark)	Österreich	richtig
7	11120708 TP02	Österreich	Österreich	richtig
8	11123442 TP01	China	Ausland	richtig
9	11123442 TP02	China	Ausland	richtig
10	11123443 TP01	Österreich (Lanach/Lieboch)	Österreich	richtig
11	11123443 TP02	10 % China	Österreich	falsch
12	11123443 TP03	5 % China	Österreich	falsch
13	11124456 TP01	China	Ausland	richtig
14	11124456 TP02	10 % China	Österreich	falsch
15	11130048 TP01	Ungarn	Österreich/Ausland	?

9.2 Kernöltest 2012 - Verein für Konsumenteninformation (VKI)

Das entwickelte Verfahren wurde für eine Marktstudie von Kürbiskernölen mit Schwerpunkt, Bestimmung der geographischen Herkunft von Kürbiskernölen, im März 2012, in Zusammenarbeit mit dem VKI erfolgreich in der Praxis eingesetzt.

Die Ergebnisse von diesem Test wurden am 24. Mai 2012 im Heft des VKI: KONSUMENT, Heft 6/2012, „Kürbiskernöl. Von wegen steirisch“ veröffentlicht.

Es wurden 30 Kürbiskernöle vom VKI für diese Marktstudie ausgewählt. Für diese 30 Kürbiskernöle wurde mit dem Klassifizierungsmodell aus 9.1. die geographische Herkunft bestimmt. Die Ergebnisse der geographischen Herkunftsbestimmung dieser 30 Kürbiskernöle sind in Tabelle 25 zusammengefasst.

Tabelle 25: Vorhersage der geographischen Herkunft der 30 Kürbiskernöle der VKI Marktstudie

	Geographische Herkunft
11 Kürbiskernöle	Österreich
2 Kürbiskernöle	Eher Österreich Herkunft nicht eindeutig bestimmbar
6 Kürbiskernöle	Ausland, wahrscheinlich China
11 Kürbiskernöle	Ausland, Mischungen oder nicht bestimmbar

10 Diskussion und Schlussfolgerungen

Mit dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass der SEE-Fingerabdruck bzw. der Elementspurengehalt in Kürbiskernöl zur Identifizierung der geographischen Herkunft herangezogen werden kann (Bandoniene et al., 2013; Joebstl et al., 2010; Zettl et al., 2011a; Zettl et al., 2011b). Die regionalen Unterschiede der SEE-Verteilung in den Kürbiskernen bzw. -ölen sind viel größer, als jene in den Böden, aber die Variation der SEE-Muster in einer Region ist sehr klein. Kürbiskerne bzw. -öle aus verschiedenen geographischen Anbaugebieten weisen unterschiedliche SEE-Muster bzw. Elementspurengehalte auf (Abbildung 22, Tabelle 5). Auch Benincasa et al. (2007) differenziert die geographische Herkunft von nativen biologischen Olivenölen, aus 4 verschiedenen Regionen in Italien, mit 18 Elementspuren welche auch einige SEE beinhalten (Be, Mg, Ca, Sc, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, As, Se, Sr, Y, Cd, Sb, Sm, Eu, Gd).

Die Fe-Gehalte der 483 extrahierten Kürbiskernöle aus Österreich, Russland und China liegen im Bereich von 0,15-16,6 µg/g (Tabelle 5). Im Gegensatz dazu fand Juranovic Cindric et al. (2007) sehr hohe Fe-Gehalte in hausgemachtem kroatischem Kürbiskernöl von 74,0 µg/g (n=5). Auch der Zn-Gehalt von 13,5 µg/g (n=5) in hausgemachtem kroatischem Kürbiskernöl unterscheidet sich von den Zn-Gehalten, die in österreichischen, russischen und chinesischen Kürbiskernölproben gefunden wurden. Die Medianwerte der Zn-Gehalte der genannten Regionen lagen nur zwischen 0,3 und 0,83 µg/g, mit einem Maximum von 3,27 µg/g in russischen Kürbiskernölproben. Die Konzentrationen von Ca, Mg, Cu und Ni von kroatischem Kürbiskernöl liegen in den gleichen Bereichen wie die von österreichischen, russischen und chinesischen Kürbiskernölen. Die Elementkonzentrationen in kroatischem Kürbiskernöl wurden mittels induktiv gekoppeltem Plasma mit Atomemissionsspektrometrie (ICP-AES) und Graphitrohr Atomabsorptionsspektrometrie (GFAAS) ermittelt (Juranovic Cindric et al., 2007). Die Unterschiede in den Fe- und Zn Gehalten, in den extrahierten Kürbiskernölen aus Österreich, Russland und China verglichen mit hausgemachtem kroatischem Kürbiskernöl, könnten nicht nur auf den geographischen Ursprung sondern auch auf die unterschiedliche Herstellung zurückgeführt werden.

In Abbildung 22 sind die typischen SEE Muster, normiert auf QCM-Oil, niederösterreichischer, steirischer, russischer und chinesischer, extrahierter Kürbiskernöle dargestellt. Um die Unterschiede in den SEE-Gehalten besser evaluieren zu können, werden in der Geochemie die SEE-Gehalte mit jenen der Chondriten normalisiert und logarithmisch dargestellt, in sogenannten SEE-Mustern (Fu et al., 2001). Um die regionalen Unterschiede zwischen den verschiedenen Kürbiskernölen besser zu beschreiben, wurden in dieser Arbeit die SEE-Gehalte mit QCM-Oil normiert. QCM-Oil ist eine Mischung aus steirischen Kürbiskernölen, welche eine negative Ce Anomalie in einem Chondriten normierten Muster (Abbildung 5) aufweist. Diese negative Ce-Anomalie, Verarmung an Ce, ist eine typische Erscheinung in SEE-Mustern, Chondriten normiert, in der Pflanze (Fu et al., 2001). Im Gegensatz dazu weisen die in Abbildung 23 dargestellten, auf QCM Oil normierten SEE-Muster, für niederösterreichische, russische, chinesische und auch für manche steirische Kürbiskernöle eine positive Ce-Anomalie auf. Was zu bedeuten hat, dass die negative Ce-Anomalie im QCM-Oil größer ist, als in den oben genannten Ölen. Unter den SEE kann nur Ce zu Ce(IV) oxidiert werden, welches sich unter natürlichen Bedingungen sofort zu unlöslichem CeO_2 umwandelt. Mit dem Ansteigen der Ladungszahl der Ionen, sinkt auch deren Durchlässigkeit durch die Membranen der Pflanzen. Selbst wenn Ce(IV) in Form eines freien Ions vorliegen würde, sollte es weniger durchlässig sein, als Ce(III) (Fu et al., 2001). Die Größe der Ce-Anomalie ist eine Funktion von pH-Wert und Redoxpotential im wässrigen Medium (Akagi and Masuda, 1998). Somit weist die extrem schwankende Ce-Anomalie in Kürbiskernölen, auf variable chemische Bedingungen, wie pH-Wert und Redoxpotential, in der Pflanze hin. Es kann außerdem die Annahme getroffen werden, dass an den Standorten in Niederösterreich, Russland und China, Ce in größeren Mengen in löslicher, für die Pflanze besser aufnehmbarer, dreiwertiger Form vorliegen muss als in der Steiermark. Die hohen positiven Ce-Anomalien, sowie die insgesamt höheren Konzentrationen von SEE und den Elementspuren von Sr, U, Ca in chinesischen Kürbiskernölen, könnte durch die Praxis der Düngung in China erklärt werden.

China war das erste Land der Welt welches SEE- Dünger kommerziell im Pflanzenbau genutzt hat. 1980 wurde begonnen 1330 ha Ackerland mit SEE Verbindungen zu düngen, ab diesem Zeitpunkt steigt diese Fläche ständig und liegt 1984 bereits bei 367 000 ha. Die industriell gewonnenen Phosphatdünger enthalten neben Ca und U auch sehr viele SEE (Hu et al., 2004; Laveuf and Cornu, 2009; McBride and Spiers, 2001).

Zusätzlich zur negativen Ce-Anomalie und zu einer Anreicherung der leichten SEE, ist ein typisches Merkmal der SEE-Muster steirischer Kürbiskernölproben die positive Gd-Anomalie, welche nicht auf Interferenzen zurückzuführen ist. Durch die Arbeit von (Meisel et al., 2002) konnten die verschiedenen Gd Interferenzen chromatographisch getrennt und mathematisch korrigiert werden, womit sie unter Kontrolle sind. Die Korrekturen der Gd-Interferenzen von ^{157}Gd und ^{160}Gd wurden auch bei dieser Arbeit berücksichtigt. Die positive Gd-Anomalie kann vielleicht durch den anthropogenen Eintrag von Gd in Flüsse und Grundwasser erklärt werden. Dieser mögliche Anstieg von Gd im Wasser kann von dessen Verwendung als Kontrastmittel in der Magnetresonanztomographie (MRT) hervorgerufen werden. Gadolinium als MRT-Kontrastmittel wird in Form eines sehr stabilen, inerten, löslichen organischen Komplexes eingesetzt, welcher zur Gänze vom menschlichen Organismus wenige Stunden nach der MRT-Untersuchung über den Urin wieder ausgeschieden wird und somit ins Abwasser und Grundwasser gelangt (Kümmerer, 2001; Kümmerer and Helmers, 2000; Rabiet et al., 2009).

Außerdem ist in Abbildung 25 deutlich erkennbar, dass die Variation der SEE-Muster in den russischen Proben sehr klein ist. Diese Homogenität der russischen SEE-Muster kommt dadurch zustande, dass der Kürbisanbau in einer sehr großen Region mit sehr homogenem Boden bzw. Bedingungen (Schwarzes Meer, Krasnodar) stattfindet. Bei der Ernte werden die Kürbiskerne einzelner Felder von Bauern zu Kooperativen geliefert und gemischt. Aus diesen vorhomogenisierten Proben wurden uns Laborproben zur Verfügung gestellt. Im Gegensatz dazu wurden Proben der österreichischen Kürbiskerne aus Ernten einzelner Felder von Bauern genommen. Ähnlich

wie bei den russischen Proben wurde auch die Probenahme der chinesischen Kerne aus mehreren großen Anbaugebieten durchgeführt.

Weiters wichtig bei der Probenahme zur Entwicklung der analytischen Methode zur geographischen Herkunftsbestimmung war es, Kürbiskernproben mit garantierter geographischer Herkunft zu verwenden. Es ist sehr schwierig Kürbiskern- oder Kürbiskernölproben am Markt mit sicherer Herkunft zu bekommen. Kommerziell erhältliche Proben können mitunter falsch deklariert sein und sind somit für die Entwicklung des Modells nicht geeignet. Durch unseren Partner Firma F. Url war es uns möglich, Proben mit eindeutiger geographischer Herkunft zu erhalten. Vor allem in Österreich und teilweise auch in Russland stand der Anbau und die Ernte unter Kontrolle und Beobachtung von Mitarbeitern der Firma F. Url.

Nicht nur die Probenahme, sondern auch eine Kontamination der Kürbiskernöle bei der Pressung muss ausgeschlossen werden, da die SEE Konzentrationen in den Kürbiskernölen ausgesprochen niedrig sind. Durch den Vergleich von gepressten und extrahierten Kürbiskernölen der gleichen geographischen Herkunft konnte gezeigt werden, dass Öle, welche traditionell in Ölmühlen produziert wurden höhere Gehalte an SEE aufweisen, als jene Öle die aus gleichen Kürbiskernen im Labor extrahiert wurden, aber der SEE-Fingerabdruck die charakteristische Verteilung beibehält.

In der Arbeit von Juranovic et al. (2003) konnten Unterschiede in der Elementkonzentration, von im Labor extrahiertem Öl und kommerziell produziertem Öl gleicher Kürbiskerne, festgestellt werden. Auch in dieser Arbeit wiesen in Ölmühlen produzierte Öle höhere Gehalte an SEE auf, als jene die durch effizientere Extraktion mit organischen Lösungsmitteln gewonnen wurden. Bei der Soxhletextraktion werden die Öle durch die Extraktionshülsen filtriert und somit viele Schwebstoffteilchen zurückgehalten. Öle in der Ölmühle hingegen werden ungefiltert abgefüllt. Die Träger der SEE sind vermutlich Schwebstoffteilchen, welche in den kommerziell produzierten, ungefilterten Ölen, noch vorhanden sind. Somit erklären sich auch deren höhere Konzentrationen. Diese These kann auch durch die Arbeiten von Bandoniene et al. (2008)

und Chatzistathis et al. (2008) unterstützt werden, welche in raffinierten pflanzlichen Ölen die Konzentrationen von SEE und anderen Elementspuren in vielen Fällen nicht quantifizieren konnten.

Zur Erstellung der Klassifizierungsmodelle werden die Konzentrationen von 24 Elementspuren und deren Verhältnisse, welche in 8.3 Statistische Auswertung/Datenbank angeführt sind, als Variablen verwendet. Bei der statistischen Auswertung dieser Variablen konnte gezeigt werden, dass die einzelnen Erntejahre der Kürbiskerne auf einzelne Variablen, nicht aber auf alle, einen Einfluss ausüben (Tabelle 21). Somit schwankt die Diskriminierungskraft der einzelnen Variablen jährlich, diese Varianz ist aber im Verhältnis kleiner, gegenüber der Varianz, zwischen den einzelnen Ländern. Da die Varianz zwischen den einzelnen Ländern viel größer ist, und in den berechneten Klassifizierungsmodellen diese Schwankung der Variablen, durch die verschiedenen Erntejahre berücksichtigt wurde, sind die Modelle über mehrere Jahre stabil. Die Klassifizierungsmodelle in dieser Arbeit, die auf Basis von Elementspuren und SEE bestehen, sind also über mehrere Jahre verwendbar und bieten einen Vorteil gegenüber jenen, die auf Basis Stabiler Isotope bestehen. Denn die Zusammensetzung des Musters der Stabiler Isotope ist sehr stark von klimatischen Bedingungen abhängig (Bontempo et al., 2009; Iacumin et al., 2009; Martin and Martin, 2003) und kann sich somit jährlich stark ändern.

Im Zuge dieser Arbeit wurde auch die Messunsicherheit der Konzentrationen von SEE in Kürbiskernölen ermittelt. Bei den Elementkonzentrationen, welche zur Erstellung der Klassifizierungsmodelle verwendet wurden, sind die Beiträge der Messunsicherheit nicht eingeflossen. Die ermittelten Konzentrationen sollten nicht mit anderen Messergebnissen, Grenzwerten oder gesetzlich geregelten Werten verglichen werden. Sollte dies der Fall sein, ist die Ermittlung und Berücksichtigung der Messunsicherheit, um das Risiko einer Über- oder Unterinterpretation von Messergebnissen zu verhindern, unbedingt zu gewährleisten. In unserem Fall war es wichtig, Unterschiede in der Konzentration der Elementspuren und SEE verschiedener geographischer

Herkunft festzustellen. Zur Qualitätssicherung und um die Analyse unter statistischer Kontrolle zu halten, wurden Regelkarten mit QCM-Oil und RMKK geführt.

Die Klassifizierungsmodelle in dieser Arbeit basieren auf Proben von Österreich, China und Russland, weshalb auch nur Proben aus diesen Gebieten richtig nach ihrem geographischen Ursprung mit diesen Modellen klassifiziert werden können. Die Überprüfung der Klassifizierungsmodelle wurde mit unbekanntem Proben aus Österreich, China und Russland durchgeführt. Hierbei konnten rund 90 % der unbekanntem Proben richtig nach ihrem geographischen Ursprung zugeordnet werden.

Proben aus anderen geographischen Gebieten wie z.B. Serbien, Kroatien, Slowenien, Ukraine usw. würden falsch klassifiziert werden. Um sichere Aussagen treffen zu können müssten alle geographischen Gebiete, in denen es einen Ölkürbisanbau gibt, in die Klassifizierungsmodelle miteinbezogen werden.

Eine eindeutige Zuordnungen von Kürbiskernproben aus dem Markt zu den Ländern Österreich, Russland und China, kann sich als schwierig erweisen, da diese Proben oft Mischproben aus verschiedenen geographischen Gebieten sein können. Über solche Proben ist es dann sehr schwierig eine Aussage, mit jenen Klassifizierungsmodellen die in dieser Arbeit erstellt wurden, bezüglich der geographischen Herkunft zutreffen. Abhilfe könnte in Zukunft eine Berechnung neuer Klassifizierungsmodelle schaffen, in welchen Mischungen von Kürbiskernproben verschiedener geographischer Herkunft bereits mit einbezogen sind.

Eine zusätzliche Möglichkeit als Absicherung und Unterstützung zur bereits bestehenden Klassifizierungsmodellen basierend auf Elementspuren zur Identifizierung der geographischen Herkunft von Kürbiskernölen, wäre eine Herkunftsbestimmung mit radiogenen Strontium Isotopen und stabilen Isotopen (Bandoniene et al., 2011; Meisel et al., 2012).

Sehr schwierig ist es, Proben von Kürbiskernen, aber vor allem von gepressten Kürbiskernölen zu bekommen, die nachweislich eine gesicherte geographische Herkunft haben, um damit die Klassifizierungsmodelle aufzubauen.

In dieser Arbeit wurden bereits erste Klassifizierungsmodelle auf Basis gepresster Kürbiskernöle definierter geographischer Herkunft erstellt und erfolgreich in der Praxis eingesetzt. Sollte diese analytische Methode als Routinemethode in der amtlichen Kontrolle Einsatz finden, wäre es anzuraten eine Probenahme der Kürbiskerne vor Ort durchzuführen und dann daraus die Kürbiskernöle zu pressen, um Proben mit definierter und gesicherter Herkunft zu erhalten. Mit diesen Proben könnten neue Klassifizierungsmodelle erstellt werden mit denen eine noch sicherere Aussage über die geographische Herkunft getroffen werden kann.

11 Literatur

- Akagi, T., Masuda, A.: A simple thermodynamic interpretation of Ce anomaly, in: *Geochemical Journal*, (1998), 32, 301-314
- Alonso-Salces, R.M., Héberger, K., Holland, M.V., Moreno-Rojas, J.M., Mariani, C., Bellan, G., Reniero, F., Guillou, C.: Multivariate analysis of NMR fingerprint of the unsaponifiable fraction of virgin olive oils for authentication purposes, in: *Food Chemistry*, (2010), 118, 956-965
- Angerosa, F., Breas, O., Contento, S., Guillou, C., Reniero, F., Sada, E.: Application of Stable Isotope Ratio Analysis to the Characterization of the Geographical Origin of Olive Oils, in: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (1999), 47, 1013-1017
- Ariyama, K., Horita, H., Yasui, A.: Establishment of an inorganic elements measuring method for determining the geographic origin of Welsh onion and preliminary examination, in: *The Japan Society for Analytical Chemistry*, (2003), 52, 969-978
- Bandoniene, D., Chatzistathis, E., Jöbstl, D., Meisel, T.: Distribution of trace elements: an aid to authentication of speciality oils, in: *Österreichische Lebensmittelchemikertage, Pflanzliche Lebensmittel -Obst, Gemüse, Wein - Qualität und Sicherheit*, (2008), 284-289
- Bandoniene, D., Zettl, D., Meisel, T., Maneiko, M.: Suitability of elemental fingerprinting for assessing the geographic origin of pumpkin (*cucurbita pepo* var. *Styriaca*) seed oil, in: *Food Chemistry*, (2013), 136, 1533-1542
- Bandoniene, D., Zettl, D., Meisel, T., Maneiko, M., Horschinegg, M., Bechtel, A.: Trace element concentrations, stable and radiogenic isotope ratios in pumpkin seed oils for identification of geographic origins, in: *4 th International IUPAC Symposium for Trace Elements in Food (TEF-4)*, (2011), 90
- Benabid, H., Naamoune, H., Nocairi, H., Rutledge, D.N.: Application of chemometric tools to compare Algerian olive oils produced in different locations, in: *Journal of Food Agriculture and Environment*, (2008), 6, 43-51
- Benincasa, C., Lewis, J., Perri, E., Sindona, G., Tagarelli, A.: Determination of trace element in Italian virgin olive oils and their characterization according to geographical origin by statistical analysis, in: *Analytica Chimica Acta*, (2007), 585, 366-370
- Benincasa, C., Lewis, J., Sindona, G., Tagarelli, A.: The use of multi element profiling to differentiate between cow and buffalo milk, in: *Food Chemistry*, (2008), 110, 257-262
- Berrueta, L.A., Alonso-Salces, R.M., Héberger, K.: Supervised pattern recognition in food analysis, in: *Journal of Chromatography A*, (2007), 1158, 196-214

Bombarda, I., Dupuy, N., Da, J.P.L.V., Gaydou, E.M.: Comparative chemometric analyses of geographic origins and compositions of lavandin var. Grosso essential oils by mid infrared spectroscopy and gas chromatography, in: *Analytica Chimica Acta*, (2008), 613, 31-39

Bontempo, L., Camin, F., Larcher, R., Nicolini, G., Perini, M., Rossmann, A.: Coast and year effect on H, O and C stable isotope ratios of Tyrrhenian and Adriatic Italian olive oils, in: *Rapid Communications In Mass Spectrometry*, (2009), 23, 1043-1048

Bréas, O., Guillou, C., Reniero, F., Sada, E., Angerosa, F.: Oxygen-18 measurement by continuous flow pyrolysis/isotope ratio mass spectrometry of vegetable oils, in: *Rapid Communications In Mass Spectrometry*, (1998), 12, 188-192

Brookins, D.G.: Aqueous geochemistry of rare earth elements, in: *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, (1989), 21, 201-225

Cajka, T., Riddellova, K., Klimankova, E., Cerna, M., Pudil, F., Hajslova, J.: Traceability of olive oil based on volatiles pattern and multivariate analysis, in: *Food Chemistry*, (2010), 121, 282-289

Camin, F., Larcher, R., Nicolini, G., Bontempo, L., Bertoldi, D., Perini, M., Schlicht, C., Schellenberg, A., Thomas, F., Heinrich, K., Voerkelius, S., Horacek, M., Ueckermann, H., Froeschl, H., Wimmer, B., Heiss, G., Baxter, M., Rossmann, A., Hoogewerff, J.: Isotopic and Elemental Data for Tracing the Origin of European Olive Oils, in: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (2010a), 58, 570-577

Camin, F., Larcher, R., Perini, M., Bontempo, L., Bertoldi, D., Gagliano, G., Nicolini, G., Versini, G.: Characterisation of authentic Italian extra-virgin olive oils by stable isotope ratios of C, O and H and mineral composition, in: *Food Chemistry*, (2010b), 118, 901-909

Castillo, J.R., Jimenez, M.S., Ebdon, L.: Semiquantitative simultaneous determination of metals in olive oil using direct emulsion nebulization, in: *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, (1999), 14, 1515-1518

Chatzistathis, E., Bandoniene, D., Jöbstl, D., Meisel, T.: Distribution of trace elements, especially rare earth elements, in different edible plant oils a mean for authentication, in: *9th International symposium on instrumental analysis*, (2008), 57

D'Imperio, M., Dugo, G., Alfa, M., Mannina, L., Segre, A.L.: Statistical analysis on Sicilian olive oils, in: *Food Chemistry*, (2007), 102, 956-965

Danzer, K., De la Calle Garcia, D., Thiel, G., Reichenbacher, M.: Classification of wine samples according to origin and grape varieties on the basis of inorganic and organic trace analyses, in: *American Laboratory*, (1999), 31, 26-34

Danzer, K., Hobert, H., Fischbacher, C., Jagemann, K.-U.: Chemometrik, Grundlagen und Anwendungen, (2001), p. 405

Ding, S., Liang, T., Zhang, C., Yan, J., Zhang, Z.: Accumulation and fractionation of rare earth elements (REEs) in wheat: controlled by phosphate precipitation cell wall absorption and solution complexation, in: Journal of Experimental Botany, (2005), 56, 2765-2775

Drava, G., Forina, M., Lanteri, S., Lupoli, M.: Development Of The Chemical-Model Of A Typical Food Product - Olive Oil From An Italian Region (Basilicata), in: Journal Of The Science Of Food And Agriculture, (1994), 65, 21-30

El-Ramady, H.R.H.: A contribution on the bio-actions of rare earth elements in the soil/plant environment, Dissertation, Technische Universität Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig, Lebenswissenschaften, (2008), p. 173

EU. Leitlinien für die Anwendung der Artikel 11, 12, 16, 17, 18, 19 und 20 der Verordnung (EG) Nr. 178/2002 über das Allgemeine Lebensmittelrecht; SCHLUSSFOLGERUNGEN DES STÄNDIGEN AUSSCHUSSES FÜR DIE LEBENSMITTELKETTE UND TIERGESUNDHEIT; <http://www.ins.public.lu/publications/fiches-info/178-2002-de.pdf>, (2004)

EURACHEM/CITAC. Leitfaden Ermittlung der Messunsicherheit bei analytischen Messungen; www.eurolab-d.bam.de, (2004), p. 117

EWG, R.d.: Verordnung (EWG) Nr. 2081/1992; Des Rates vom 14. Juli 1992 zum Schutz von geographischen Angaben und Ursprungsbezeichnungen für Agrarerzeugnisse und Lebensmittel, 2081/92, (1992)

Franke, B.M., Gremaud, G., Hadorn, R., Kreuzer, M.: Geographic origin of meat—elements of an analytical approach to its authentication, in: European Food Research and Technology, (2005), 221, 493-503

Freitas, C.M.: Element concentrations in candidate biological and environmental reference materials by k₀-standardized INAA, in: Fresenius' Journal of Analytical Chemistry, (1993), 345, 304-307

Fu, F., Akagi, T., Yabuki, S., Iwaki, M.: The variation of REE (rare earth elements) patterns in soil-grown plants: a new proxy for the source of rare earth elements and silicon in plants, in: Plant and Soil, (2001), 235, 53-64

Galgano, F., Favati, F., Caruso, M., Scarpa, T., Palma, A.: Analysis of trace elements in southern Italian wines and their classification according to provenance, in: LWT - Food Science and Technology, (2008), 41, 1808-1815

- Galtier, O., Dupuy, N., Le Dreau, Y., Ollivier, D., Pinatoc, C., Kister, J., Artaud, J.: Geographic origins and compositions of virgin olive oils determined by chemometric analysis of NIR spectra, in: *Analytica Chimica Acta*, (2007), 595, 136-144
- Giaccio, M., Cichelli, A., Oddone, M.: Content of metals in traces in some edible oils, in: *Trace Elements in Man and Animals (TEMA 8)*, Anke, M., Meissner, D., Mills, C.F. (Eds.), Media-Touristik, Dresden, (1993), p. 1556
- Giansante, L., Di Vincenzo, D., Bianchi, G.: Classification of monovarietal Italian olive oils by unsupervised (PCA) and supervised (LDA) chemometrics, in: *Journal Of The Science Of Food And Agriculture*, (2003), 83, 905-911
- Gonzalez, A., Armenta, S., de la Guardia, M.: Trace-element composition and stable-isotope ratio for discrimination of foods with Protected Designation of Origin, in: *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, (2009), 28, 1295-1311
- González, A., Llorens, A., Cervera, M.L., Armenta, S., de la Guardia, M.: Elemental fingerprint of wines from the protected designation of origin Valencia, in: *Food Chemistry*, (2009), 112, 26-34
- GUM. Evaluation of measurement data — Guide to the expression of uncertainty in measurement, JCGM 100:2008 GUM 1995 with minor corrections (2008), p. 120
- Habashi, F.: The Discovery and Industrialisation of the Rare Earths, in: *Canadian Mining and Metallurgical Bulletin (Canada)*, (1994), 87, 80-86
- Hedrick, J.B.: The global rare-earth cycle, in: *Journal of Alloys and Compounds*, (1995), 225, 609-618
- Heier, A.: Nachweis der geographischen Herkunft von Pistazien anhand der Stabilisotopenverhältnisse, Dissertation, Technische Universität Berlin, Fakultät III - Prozesswissenschaften, Berlin, (2006), p. 177
- Henrion, R., Günter, H.: *Multivariate Datenanalyse, Methodik und Anwendung in der Chemie und verwandten Gebieten*, (1995), p. 261
- Hermann, A., Voerkelius, S.: Meteorological Impact on Oxygen Isotope Ratios of German Wines, in: *Am. J. Enol. Vitic.*, (2008), 59, 194-199
- Hinsinger, P., Gobran, W., Wenzel, W., Lombi, E.: *Trace Elements in the Rhizosphere*, in: CRC Press, Boca Raton, (2001), 25
- Hölzl, S., Åberg, G., Hedges, R.M., Horn, P., Hull, B., Rummel, S., Téreygeol, F.: *Auf Spurensuche in der Vergangenheit — Isotope schreiben Geschichte*, Springer Berlin Heidelberg, (2007), pp. 263-277

Hu, Z., Richter, H., Sparovek, G., Schnug, E.: Physiological and biochemical effects of rare earth elements on plants and their agriculture significance: a review, in: *Journal of Plant Nutrition*, (2004), 27, 183-220

Iacumin, P., Bernini, L., Boschetti, T.: Climatic factors influencing the isotope composition of Italian olive oils and geographic characterisation, in: *Rapid Communications In Mass Spectrometry*, (2009), 23, 448-454

ISO. Internationales Wörterbuch der Metrologie, Beuth Verlag, Berlin, (1994), p. 106

Jakubowski, N., Brandt, R., Stuewer, D., Eschnauer, H.R., Görtges, S.: Analysis of wines by ICP-MS: Is the pattern of the rare earth elements a reliable fingerprint for the provenance?, in: *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, (1999), 364, 424-428

Joebstl, D., Bandoniene, D., Meisel, T.: Comparison of Different Extraction Techniques for Oils for the Determination of REE in Pumpkin Seed Oil by ICP-Ms, in: *Trends in Sample Preparation '07*, (2007), 55

Joebstl, D., Bandoniene, D., Meisel, T.: Identifizierung der geographischen Herkunft von Kürbiskernölen, in: *Tagungsband, Österreichische Lebensmittelchemikertage 2008; Pflanzliche Lebensmittel - Wein, Obst, Gemüse - Qualität und Sicherheit*, (2008), 97-103

Joebstl, D., Bandoniene, D., Meisel, T., Chatzistathis, S.: Identification of the geographical origin of pumpkin seed oil by the use of rare earth elements and discriminant analysis, in: *Food Chemistry*, (2010), 123, 1303-1309

Juranovic Cindric, I., Zeiner, M., Steffan, I.: Trace elemental characterization of edible oils by ICP-AES and GFAAS, in: *Microchemical Journal*, (2007), 85, 136-139

Juranovic, I., Breinhoelder, P., Steffan, I.: Determination of trace elements in pumpkin seed oils and pumpkin seeds by ICP-AES, in: *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, (2003), 18, 54-58

Kapaun, F., Pfeiffer-Mayer, S., List, B., Freigassner, H., Pohl, A., Bucher, H., Winkler, J.: Die Entwicklung der chinesischen Kürbiskerne!; Flächenausweitung derzeit nicht erwünscht!, in: *reifezeit*, (2010), 1, 10-11

Kawasaki, A., Oda, H., Hirata, T.: Determination of Strontium Isotope Ratio of Brown Rice for Estimating Its Provenance, in: *Soil Science and Plant Nutrition*, (2002), 48, 635-640

Kelly, S., Heaton, K., Hoogewerff, J.: Tracing the geographical origin of food: The application of multi-element and multi-isotope analysis, in: *Trends in Food Science & Technology*, (2005), 16, 555-567

- Kessler, W.: Multivariate Datenanalyse für die Pharma-, Bio- und Prozessanalytik, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, (2007), p. 325
- Kitto, M.E., Anderson, D.L., Gordon, G.E., Olmez, I.: Rare earth distributions in catalysts and airborne particles, in: *Environmental Science & Technology*, (1992), 26, 1368-1375
- Koreňovská, M., Suhaj, M.: Identification of Slovakian, Polish, and Romanian bryndza cheeses origin by factor analysis of some elemental data, in: *European Food Research and Technology*, (2007), 225, 707-713
- Kučera, J., Mizera, J., Řanda, Z., Vávrová, M.: Pollution of agricultural crops with lanthanides, thorium and uranium studied by instrumental and radiochemical neutron activation analysis, in: *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, (2007), 271, 581-587
- Kühbauch, W.: Stabile Isotope als Indikatoren für Milch- und Fleischprodukte vom Grünland, in: 13. Alpenländisches Expertenforum, am 29. März 2007, (2007), 21-26
- Kümmerer, K.: Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources – a review, in: *Chemosphere*, (2001), 45, 957-969
- Kümmerer, K., Helmers, E.: Hospital Effluents as a Source of Gadolinium in the Aquatic Environment, in: *Environmental Science & Technology*, (2000), 34, 573-577
- Kürbiskernölforum. Flächenausdehnung, (2010), 1. Österreichisches Kürbiskernölforum am 16. 09. 2010; Lannach, Steiermark, persönliche Mitteilung
- Laveuf, C., Cornu, S.: A review on the potentiality of Rare Earth Elements to trace pedogenetic processes, in: *Geoderma*, (2009), 154, 1-12
- Liang, T., Yan, B., Zhang, S., Wang, L., Wang, N., Liu, H.: Contents and the biogeochemical characteristics of rare earth elements in wheat seeds, in: *Biogeochemistry*, (2001), 54, 41-49
- Lopez-Feria, S., Cardenas, S., Garcia-Mesa, J.A., Valcarcel, M.: Classification of extra virgin olive oils according to the protected designation of origin, olive variety and geographical origin, in: *Talanta*, (2008), 75, 937-943
- Luykx, D.M.A.M., van Ruth, S.M.: An overview of analytical methods for determining the geographical origin of food products, in: *Food Chemistry*, (2008), 107, 897-911
- Magnusson, B., Näykki, T., Hovind, H., Krysell, M.: Handbook for calculation of measurement uncertainty in environmental laboratories, (2004), p. 41

- Marini, F., Balestrieri, F., Bucci, R., Magri, A.D., Magri, A.L., Marini, D.: Supervised pattern recognition to authenticate Italian extra virgin olive oil varieties, in: *Chemometrics And Intelligent Laboratory Systems*, (2004), 73, 85-93
- Marini, F., Balestrieri, F., Bucci, R., Magri, A.L., Marini, D.: Supervised pattern recognition to discriminate the geographical origin of rice bran oils: a first study, in: *Microchemical Journal*, (2003), 74, 239-248
- Markert, B.: *Instrumentelle Multielementanalyse von Pflanzenproben*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, (1993), p. 265
- Martin, G.J., Martin, M.L.: Climatic significance of isotope ratios, in: *Phytochemistry Reviews*, (2003), 2, 179-190
- Matos, L.C., Cunha, S.C., Amaral, J.S., Pereira, J.A., Andrade, P.B., Seabra, R.M., Oliveira, B.P.P.: Chemometric characterization of three varietal olive oils (Cvs. Cobrançosa, Madural and Verdeal Transmontana) extracted from olives with different maturation indices, in: *Food Chemistry*, (2007), 102, 406-414
- McBride, M.B., Spiers, G.: Trace element content of selected fertilizers and dairy manures as determined by ICP-MS, in: *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, (2001), 32, 139-156
- Meisel, T., Bandoniene, D., 2007. A pattern recognition system for identifying a vegetable oil sample, in: Office, E.P. (Ed.), Netherlands
- Meisel, T., Bandoniene, D., Zettl, D., Maneiko, M., Horschinegg, M.: $^{87}\text{Sr}/^{88}\text{Sr}$ a useful tool for the identification of geographic origin of Styrian pumpkin seed oils?, in: *Geophysical Research Abstracts*; EGU2012-8369, (2012), 14
- Meisel, T., Schöner, N., Paliulionyte, V., Kahr, E.: Determination of Rare Earth Elements (REE), Y, Th, Zr, Hf, Nb and Ta in geological reference materials G-2, G-3, SCo-1 and WGB-1 by sodium peroxide sintering and ICP-MS, in: *Geostandards Newsletter*, (2002), 26, 53-61
- Nestler, A.: *Bestimmung der Messunsicherheit für die Verfahren und Methoden zur Bodenanalytik des Anhanges 1 der Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung*, Dissertation, Freie Universität Berlin, Fachbereich Geowissenschaften, (2007), p. 163
- Nye, P.H.: Changes of pH across the rhizosphere induced by roots, in: *Plant and Soil*, (1981), 61, 7-26
- Pang, X., Li, D., Peng, A.: Application of rare earth elements in the agriculture of China and its environmental behaviour in soil, in: *Environmental Science and Pollution Research International*, (2002), 9, 143-148

Pritchett, W.L., Fisher, R.F.: Properties and Management of Forest Soils, John Wiley and Sons, New York, (1987), p. 512

Rabiet, M., Brissaud, F., Seidel, J.L., Pistre, S., Elbaz-Poulichet, F.: Positive gadolinium anomalies in wastewater treatment plant effluents and aquatic environment in the Hérault watershed (South France), in: *Chemosphere*, (2009), 75, 1057-1064

Ramsey, M.H., Ellison, S.L.R.: Measurement uncertainty arising from sampling: A guide to methods and approaches, in: *Eurachem/EUROLAB/CITAC/Nordtest/AMC Guide*, (2007), 102

Römpp. Römpps Lexikon der Chemie in: Falbe J, Regitz M Eds, Thieme Verlag Stuttgart, (1997)

Rosman, K.J.R., Taylor, P.D.P.: Isotopic compositions of the elements 1997 (Technical Report), in: *Pure Appl. Chem.*, (1998), 70, 217-235

Schuster, W.: Der Ölkürbis (*Cucurbita pepo* L.) – Eine monographische Darstellung. , Berlin und Hamburg: Verlag Paul Parey., (1977), p. 53

Schwarz, S.: Steirisches Kürbiskernöl: Beitrag der "geographisch geschützten Angabe" zur ländlichen Entwicklung, Dissertation, Universität für Bodenkultur Wien, Wirtschafts- und Sozialwissenschaften, (2008), p. 103

Shan, X.-q., Lian, J., Wen, B.: Effect of organic acids on adsorption and desorption of rare earth elements, in: *Chemosphere*, (2002), 47, 701-710

Smeyers-Verbeke, J., Jäger, H., Lanteri, S., Brereton, P., Jamin, E., Fauhl-Hassek, C., Forina, M., Römisch, U.: Characterization and determination of the geographical origin of wines. Part II: descriptive and inductive univariate statistics, in: *European Food Research and Technology*, (2009), 230, 15-29

Statistik Austria. Feldfruchternte 2009, (2009), 6

Statistik Austria. Feldfruchternte 2010, (2010), 5

Stewart, B.W., Capo, R.C., Chadwick, O.A.: Quantitative strontium isotope models for weathering, pedogenesis and biogeochemical cycling, in: *Geoderma*, (1998), 82, 173-195

Stöckigt, D., Schmidt, H.-L., Roßmann, A., Christoph, N.: Herkunft und Authentizität von Lebensmitteln: Stabilisotopenanalytik, in: *Chemie in unserer Zeit*, (2005), 39, 90-99

Sun, J., Zahao, H., Wang, Y.: Study on the contents of trace rare earth elements and their distribution in wheat and rice samples by RNAA in: *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, (1994), 179, 377-383

Swoboda, S., Brunner, M., Boulyga, S., Galler, P., Horacek, M., Prohaska, T.: Identification of Marchfeld asparagus using Sr isotope ratio measurements by MC-ICP-MS, in: *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, (2008), 390, 487-494

Teppner, H.: Notizen zur Geschichte des Kürbisses, in: *Obst-Wein-Garten*, (1999), 10, 36

Thiel, G., Geisler, G., Blechschmidt, I., Danzer, K.: Determination of trace elements in wines and classification according to their provenance, in: *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, (2004), 378, 1630-1636

Tyler, G.: Rare earth elements in soil and plant systems - A review, in: *Plant and Soil*, (2004), 267, 191-206

von Tucher, S., Schmidhalter, U.: Lanthanum uptake from soil and nutrition solution and its effects on plant growth, in: *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, (2005), 168, 574-580

Wegscheider, W.: Regelkarten, in: *Skriptum, Universitätslehrgang Qualitätssicherung im chemischen Labor*, (2008), 7

Wytenbach, A., Furrer, V., Schleppe, P., Tobler, L.: Rare earth elements in soil and in soil-grown plants, in: *Plant and Soil*, (1998a), 199, 267-273

Wytenbach, A., Tobler, L., Schleppe, P., Furrer, V.: Variation of the rare earth element concentrations in the soil, soil extract and in individual plants from the same site, in: *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, (1998b), 231, 101-106

Xiong, B.K., Chen, P., Guo, B.S., Zheng, W.: Rare earth element research and applications in Chinese agriculture and forest (in Chinese), in: *Metallurgical Industry Press, Beijing China*, (2000), 1-151

Youssef, O., Guido, F., Manel, I., Youssef, N.B., Luigi, C.P., Mohamed, H., Daoud, D., Mokhtar, Z.: Volatile compounds and compositional quality of virgin olive oil from Oueslati variety: Influence of geographical origin, in: *Food Chemistry*, (2011), 124, 1770-1776

Zettl, D., Bandoniene, D., Maneiko, M., Meisel, T.: Identification of the geographical origin of pumpkin seed oil by the use of elemental fingerprinting including rare earth elements, in: *Food Integrity and Traceability Conference*, (2011a), 63

Zettl, D., Bandoniene, D., Meisel, T., Maneiko, M.: Application of multivariate data analysis (MDA) - Identification of the geographical origin of pumpkin seed oil by the

use of elemental fingerprinting including rare earth elements, in: 4 th International IUPAC Symposium for Trace Elements in Food (TEF-4), (2011b), 89