

Validierung als Instrument für die Lehr- und Lernbarkeit der Bildschaffenden Methoden

Johannes Kahl, Nicolaas Busscher, Angelika Ploeger

Den Begriff „Validierung“ im Zusammenhang mit „Bildschaffenden Methoden“ zu verwenden setzt eine konkrete Fragestellung, ein Verständnis für die Labor- und Auswertungsprozesse und schließlich eine Definition der verwendeten Begriffe voraus (Kahl *et al.* 2005). Daher ist es das Anliegen der Autoren, die Validierung der Bildschaffenden Methoden im Hinblick auf deren Lehr- und Lernbarkeit (so der Titel eines Vortrages von JK auf dem Jahrestreffen des AK Bildschaffende Methoden in Montbeliard/F am 7. April 2006) zu erläutern und zu begründen. Zu diesen Bildschaffenden Methoden gehören z. B. die Biokristallisation und das Steigbild.

Die Ergebnisse der Biokristallisation (Andersen 2001, Kahl *et al.* 2003) sind mehr oder weniger geordnete und produkttypische Kristallmuster auf einer runden Glasplatte, die nach vorgegebenen Kriterien ausgewertet und interpretiert werden. Das Verfahren liefert einen direkten „Abdruck“ des Produktes. Es wird für Fragen des Anbaus, der Sortenwahl und der Lagerung und zur Bewertung von Verarbeitungsschritten eingesetzt.

Im Unterschied zur Dünnschichtchromatographie, wo die stoffliche Trennung im Vordergrund steht, geht es bei dem Steigbild (vgl. u. a. Zalecka 2006) um eine Differenzierung nach Struktur und Gestalt des Bildes. Das Verfahren wird seit Jahrzehnten für die ganzheitliche Beurteilung von Pflanzen- und Lebensmittelqualität eingesetzt.

Der Einsatz Bildschaffender Methoden für die Beurteilung der Qualität von (u. a. ökologischen) Lebensmitteln kann aus verschiedenen Perspektiven beurteilt werden:

1. Entwicklung und Etablierung der Methode in der Forschung (Wissenschaft);
2. Auftragsarbeit zur Charakterisierung von landwirtschaftlichen oder verarbeiteten Proben (Qualitätskontrolle, Produktbeschreibung in der Wirtschaft);
3. Bereitstellung von Argumenten durch die Ergebnisse der Bildschaffenden Methoden für politische Entscheidungen, Richtlinien oder Verordnungen (Gesellschaft/Recht).

So fordert z. B. die Herausstellung ökologischer Produkte gegenüber konventionellen oder nach EU-Richtlinien (*EG-Öko-Verordnung 1991*) erzeugten validierte Methoden, die einen Unterschied zwischen diesen Produkten im Lebensmittel selbst zeigen. Analytische Methoden konnten diesen Unterschied bisher nicht eindeutig nachweisen (Tauscher *et al.* 2003).

Für die Auslobung der Produkte auf Basis der derzeitigen Gesetzgebung ist nicht der Nachweis eines Unterschieds im Produkt relevant, sondern nur die Erzeugung auf Basis der EU-Richtlinien (prozessdefinierte Qualität). In der Praxis wurde zur Unterscheidung der Produkte u. a. auf die Bildschaffenden Methoden zurückgegriffen. Diese sind bisher aber nicht anerkannt, weil nur ungenügend dokumentiert und für bestimmte Fragestellungen wie z. B. die Differenzierung von Lebensmitteln unterschiedlicher Anbausysteme nicht validiert. Daher konnten sie bisher weder in der Werbung für ökologische Produkte verwendet werden noch Eingang in Richtlinien für Anbau und Verarbeitung oder in die Qualitätskontrolle finden.

Die wissenschaftliche Erforschung der Bildschaffenden Methoden muss daher aus Sicht der Verbände und der Hersteller zwingend vorangetrieben werden. Die Arbeitsgruppe Lebensmittelqualität im Fachgebiet Ökologische Lebensmittelqualität und Ernährungskultur (Leitung Prof. Dr. Angelika Ploeger) an der Universität Kassel, Standort Witzenhausen, stellt sich seit Oktober 2001 dieser Herausforderung (vgl. *Kahl et al.* 2002).

Validierung meint in diesem Zusammenhang eine Prüfung der Gültigkeit einer wissenschaftlichen Methode bzw. der Gültigkeit eines Ergebnisses, das mit einer wissenschaftlichen Methode erzielt worden ist. Ist eine Methode valide, so ist sie wirksam, rechtsgültig oder im alten Verständnis des Begriffs „kräftig“ und „gesund“. Im Brockhaus (1984) wird gültig definiert als: „geltend, in Gebrauch befindlich, amtlich anerkannt, rechtlich wirksam“. Die Validierung von Labormethoden zur Erfassung von Aspekten der Lebensmittelqualität heißt, zu prüfen, ob die Methode für die Beantwortung einer Fragestellung geeignet ist (*Kromidas* 2000, ISO 17025). Damit wird nachgewiesen, dass das Ergebnis einer Labormethode der Ausdruck der Qualität der Probe und nicht auf den (z. B. nicht definierten) Laborprozess selbst zurückzuführen ist. Dies führt zu der Aufgabenstellung, herauszuarbeiten, wie sich die Qualität einer Probe von den zusätzlich eingebrachten Einflüssen des Labors im Ergebnis unterscheidet (eine Charakterisierungsmethode, wie sie auch in der ISO 17025 für die Validierung benannt wird). Für die Bildschaffenden Methoden existieren eine Vielzahl unterschiedlicher Ansätze (vgl. *Andersen* 2001, *Ballivet et al.* 1999, *Balzer-Graf* 1991, 1998, 2001 *Barth* 2004, *Bessenich* 1951, *Engqvist* 1970, 1975, *Geier* 2005, *Hahn* 1962, *Knijpena* 2001, *Pettersson* 1967, *Pfeiffer* 1930, *Selawry/Selawry* 1957, *Steffen* 1983, *Strüh* 1987 etc.). Viele dieser Ansätze waren oder sind personengebunden und daher nicht übertrag- und objektivierbar. Dies ist kein Nachteil; die Validierung hat aber die Übertrag- und Objektivierbarkeit zum Ziel. Bei einer Validierung muss darauf geachtet werden, dass die Ergebnisse nur für den Ansatz gelten, mit dem validiert wurde (sog. In-house-Validierung). Anschließend müssen nach erfolgreicher In-

house-Validierung entsprechende Laborvergleichsversuche (Ringversuche) durchgeführt werden.

Werden die Ergebnisse einer Methode nach außen gegeben und gegenüber Dritten mitgeteilt, so muss jede Methode so beschrieben werden, dass die Ergebnisse und deren Interpretation mit den Prozessen, unter denen sie erbracht wurden, in einer für jeden nachvollziehbaren Verbindung stehen. Die als Voraussetzung für eine Validierung notwendige Dokumentation der Laborprozeduren (einschließlich der Bedingungen in der Klimakammer oder während der Auswertung) ist eine Standardisierung der Prozesse. Dabei wird Standardisierung als die möglichst detaillierte Kenntnis über das eigene Tun verstanden (von mhd. „stehe fest“). Erst mit solchen standardisierten Prozeduren kann die jeweilige Methode von anderen genutzt und gegebenenfalls bestätigt und es kann festgestellt werden, ob ein Ergebnis zufällig oder wiederholbar ist.

Der Einsatz einer Methode in einem Labor ist ein komplexer, aus mehreren Schritten bestehender Prozess. Es muss bei einer Validierung also beachtet werden, welchen der verschiedenen Schritte man diskutiert. Bereits die Probenahme gehört dazu. Im Labor angekommen, wird jede Probe für die Bestimmung vor- und aufbereitet. Die Messungen werden aus- und schließlich in Bezug zur Fragestellung bewertet (interpretiert). Wenn von Vergleichbarkeit der Ergebnisse gesprochen wird, so ergeben sich für die Bildschaffenden Methoden die Fragen: Wie soll der Grad der Vergleichbarkeit bestimmt werden? Sind es die Bilder von einer Probe an einem Tag, von einer Laborperson an einem Ort oder sind es die Ergebnisse an unterschiedlichen Tagen, in unterschiedlichen Kammern von unterschiedlichen Laborpersonen oder auch die Vergleichbarkeit der Ergebnisse von verschiedenen auswertenden Personen am selben Bild?

Bezogen auf die Art der Auswertung der Bilder können Textur-, Struktur- und Gestaltinformationen verglichen werden. Die Validierung der Methode soll auf den verschiedenen Ebenen von Textur- und Struktureigenschaften bis zur Gestalt des Bildes erfolgen. In den letzten fünf Jahren seit 2001 konnte als erster Schritt die sog. In-house-Validierung mit einer computergestützten Texturanalyse erfolgreich abgeschlossen werden. Es wurde auch bereits mit der Entwicklung von Auswertungsinstrumenten auf Struktureigenschaften begonnen (*Kretschmer* 2003), wobei die Bilder sowohl visuell (also mit dem optischen Sinn) als auch computergestützt ausgewertet werden können. In einem nächsten Schritt soll dann die Auswertung der Bilder nach ihrer Gestalt methodisch gefasst und für eine Validierung nutzbar gemacht werden. Dies bedarf einer intensiven weiterführenden Grundlagenforschung, wozu die Arbeiten der Autoren eine Basis gelegt haben. Eine Validierung ist also nach Meinung der Autoren auf allen drei Auswertungsebenen möglich. Jede Ebene (Textur, Struktur, Gestalt) bedarf aber gegebenenfalls ihrer eigenen Validierungs-

parameter. Solche Validierungsparameter sind z. B. die bereits diskutierte Vergleichbarkeit der Bilder, die Untersuchung der verschiedenen Einflussfaktoren im Labor und in der Klimakammer oder Veränderungen des Mischungsverhältnisses von Probe und Salz (beim Steigbild sind es die Konzentrationen) sowie der Kristallisationszeiten (vgl. *Kabl et al.* 2002, *Andersen et al.* 2003, *Zalecka et al.* 2006).

Die Vergleichbarkeit der Bilder kann weiter unterteilt werden in die Variation durch die Kammer (z. B. den Kristallisationsprozess), die Probenaufbereitung, die Person, den Tag oder das Labor. Man spricht dann von der Bestimmung der Streuung oder der Präzision der Methode. Hier kann wieder in Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit untergliedert werden (vgl. *Kromidas* 2000 bzw. die einschlägigen Normen). Unterschiede zwischen Proben sind nur dann bestimmbar, wenn diese größer sind als die Streuung jeder Probe selbst. Deshalb sollte auch jede Probe mit einer parallelen Wiederholung der einzelnen Schritte bestimmt werden (die Autoren arbeiten i. A. mit einer dreifachen Wiederholung der Probenaufbereitung und einer sechsfachen Bildwiederholung pro Probenaufbereitung). Die Richtigkeit der Bildschaffenden Methoden (Prüfung des „wahren“ Wertes) kann bisher nicht bestimmt werden, da es keine Referenzmaterialien gibt. Die Methoden arbeiten qualitativ vergleichend, d. h. die Unterscheidung von Proben ist zunächst nominal und die Proben können bis zu einer Rangordnung geordnet werden (Ordinalskalierung bis Intervall). Für eine Rangordnung bedarf es Referenzbilder, die aber wieder nur unter Standardbedingungen gelten. Für die visuelle Bildauswertung ist ein Ansatz zur Validierung dazu bereits entwickelt worden (vgl. *Kretschmer* 2003). Dieser wird in einer Zusammenarbeit der Autoren mit Forschungspartnern in einem europäischen Netzwerk (s.u.) weiter bearbeitet (vgl. auch Beitrag M. Huber in diesem Heft).

Die Bildschaffenden Methoden werden zunächst für konkrete Fragestellungen (z. B. Differenzierung nach Anbauverfahren) validiert. Welche Instrumente zur Validierung herangezogen werden, ob z. B. eine statistische Bearbeitung der Ergebnisse nötig ist, richtet sich nach der Fragestellung und wie diese formuliert ist. Dies wird immer von den Menschen vorgenommen, die sich mit der Qualität in Beziehung setzen, sei es als Produzent, Verarbeiter, Händler oder Konsument. Was von diesen vier Marktpartnern gefordert wird, bestimmt die Fragestellung und damit den Validierungsinhalt und -umfang. Pettersson beschreibt eine valide Vorgehensweise mit den Bildschaffenden Methoden in drei Schritten (*Pettersson* 1967, S. 15):

„1. Unterscheiden sich die Produkte verschiedener Behandlungen in einer oder mehrfacher Hinsicht? 2. Wie groß ist der Unterschied und ist er gesichert? 3. Wenn der Unterschied als gesichert angesehen werden kann, welche Wirkungen kommen darin zum Ausdruck?“

Die erste Frage hat qualitative Aspekte, und um sie beantworten zu können, muss man für das, was man als Unterschied ansieht, Kriterien aufstellen. Die zweite Frage geht weiter und umfasst auch eine quantitative Seite. Um sie beantworten zu können, braucht man eine geeignete Skala, mit deren Hilfe man die einzelnen Resultate vergleichen kann. Diese werden meistens in Zahlensymbolen ausgedrückt, und in diesem Falle sind Mathematik und Statistik wertvolle Hilfsmittel beim Vergleichen von Resultaten. Die dritte Frage ist erkenntnismäßiger Art. In dem Experiment, auch wenn es ziemlich vielseitig angelegt ist, hat man aus der Ganzheit etwas herausgenommen, um es ‚rein‘ studieren zu können. Die Resultate, welche man durch die Beantwortung der beiden ersten Fragen bekommen hat, müssen nun bewertet werden, um sie wieder in ihren rechten Zusammenhang stellen zu können.“

Es ist daher an der Zeit, eine kritische Reflexion vorzunehmen und zu fragen, warum die Methoden bisher so wenig „kräftig“ und „gesund“ (valide) gemacht werden konnten: Hätten die mit den jeweiligen Methoden arbeitenden Personen ihre Versuchsbedingungen und ihr Bildmaterial exakt und vollständig so dokumentiert, dass es unter heutigen Bedingungen wiederholt werden könnte, wäre heute dieses Material zugänglich, so könnten die Ergebnisse der vorherigen Forscher für wichtige Langzeittrends in der Lebensmittelqualität, der Sortenqualität oder den Umwelteinflüssen genutzt werden, wie sie von Ehrenfried Pfeiffer in den fünfziger Jahren begonnen wurden. Seit 2002 arbeiten daher drei Forschungsinstitute in einem europäischen Netzwerk zusammen. Das Ziel des sog. Triangle-Netzwerkes¹ ist es, die bildschaffenden Methoden für die Beurteilung ökologischer Lebensmittelqualität zu validieren. Dazu gehört u. a., die Labor- und Kristallisationsprozesse (bzw. die Steigphasen) zu standardisieren und zu dokumentieren und die Auswertung der Bilder sowohl visuell als auch computerunterstützt vorzunehmen. Dass dies möglich ist, zeigen die Resultate der letzten fünf Jahre (u. a. Förderung durch das deutsche Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz und Dokumentation in Abschlussberichten; Publikationen in Vorbereitung). Diese Arbeiten sehen die Autoren als unabdingbare Voraussetzung für die allgemeine Anerkennung der Methode. Dabei ist nicht nur der Zusammenhang zwischen Qualität der Probe und dem entstandenen Bild interessant (die Bildauswertung und Interpretation). Der Prozess der Bildentstehung birgt auch noch ungehobene Schätze für eine wissenschaftliche

1 Machteld Huber, Paul Doesburg vom Louis-Bolk-Institute, Driebergen/NL, Dr. Jens-Otto Andersen, Marianne Paulsen, Kirsten Skjaerbag, Bent Pyskow von der Biodynamic Research Association Denmark in Galten und Prof. Dr. Angelika Ploeger, Dr. Nicolaas Busscher, Dr. Johannes Kahl, Gaby Mergardt, Aneta Zalecka vom Fachgebiet Ökologische Lebensmittelqualität und Ernährungskultur an der Universität Kassel.

Bearbeitung (z. B. über das Konzept der Selbstorganisation, vgl. auch *Nitschmann* 1993). In einem Validierungsprozess wird die genaue Kenntnis über diese beiden Prozesse gewonnen und dokumentiert. Dadurch wird sie Dritten zugänglich, prüfbar, nutzbar und schließlich lehr- und lernbar.

Dank

Die Autoren danken u. a. der Software AG Stiftung, Darmstadt und dem Ministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz für die finanzielle Förderung der Arbeiten zur Validierung der Methoden.

Literatur

- Andersen, J.-O.* (2001): Development and application of the biocrystallisation method. Biodynamic Research Association, Denmark, Report 1.
- Andersen, J.-O., et al.* (2003): A concentration matrix procedure for determining optimal combinations of concentrations in biocrystallization, *Elemente d. N.* 79, S. 97–114.
- Ballivet, C., et al.* (1999): Zur Empfindlichkeit der Methode der Kupferchloridkristallisation. *Elemente d. N.* 70, S. 1–32.
- Balzer-Graf, U.* (2001): Vitaqualität-Qualitätsforschung mit bildschaffenden Methoden. *Ökologie & Landbau*, 117, 1, S. 22–24.
- Balzer-Graf, U., Balzer, F.* (1991): Steigbild und Kupferchloridkristallisation. Spiegel der Vitalaktivität von Lebensmitteln. In: *Meier-Ploeger, A., Vogtmann, H.* (Hg.) (1991): *Lebensmittelqualität – Ganzheitliche Methoden und Konzepte.* Schriftenreihe der Stiftung Ökologie und Landbau, 66. Karlsruhe.
- Balzer-Graf U., Hoppe, H., Straub, M.* (1998): Äpfel – organisch und biologisch-dynamisch. Erntemenge und Vitalqualität im Vergleich. *Lebendige Erde* 5, S. 387–395.
- Barth J.-G.* (2004): Cupric chloride crystallisation with additives and its applications. *Elemente d. N.* 81, 5–22.
- Bessenich, F.* (1951): Beiträge zur Erforschung der Bildekräfte durch empfindliche Kristallisation. Schriftenreihe der naturwissenschaftlichen Sektion am Goetheanum 1.
- EG-Öko-Verordnung* (1991): Verordnung (EWG) Nr. 2092/91 des Rates vom 24. Juni 1991 über den ökologischen Landbau/die biologische Landwirtschaft und die entsprechende Kennzeichnung der landwirtschaftlichen Erzeugnisse und Lebensmittel (zuletzt geändert durch die Verordnung (EG) Nr. 223/2003 der Kommission vom 5. Februar 2003).
- Engqvist, M.* (1970): *Gestaltkräfte des Lebendigen.* Frankfurt/M.
- Engqvist, M.* (1975): *Physische und lebensbildende Kräfte in der Pflanze.* Frankfurt/M.
- Geier, U.* (2005): Pflanzenorganbildtypen in Kupferchloridkristallisation und Steigbild. Vom Lesen in den Spuren des Lebendigen. *Lebendige Erde* 5, S. 42–45.
- Hahn, F. V. von* (1962): *Thesigraphie.* Wiesbaden.
- ISO 17025* (2000): General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. ISO, Geneva.

- Kahl, J., Busscher, N., Meier-Ploeger, A. (2002):* Von der Pflanze zum Bild – Motivation zur Arbeitstagung Bildschaffende Methoden in Witzenhausen. *Elemente d. N. 77*, S. 112.
- Kahl, J., Busscher, N., Meier-Ploeger, A. (2003):* Ganzheitliche Untersuchungsmethoden zur Erfassung und Prüfung der Qualität ökologischer Lebensmittel: Stand der Entwicklung und Validierung, Abschlussbericht Projekt 02OE170, Bundesprogramm Ökolandbau.
- Kahl, J., Busscher, N., Meier-Ploeger, A. (2005):* Validierung: Charakterisierte Methoden für klare Fragen. Tagungsband 8. Wissenschaftstagung Ökolandbau, Kassel, S. 565–569.
- Knijpenga, H. (2001):* Einflüsse unterschiedlicher Behandlungen auf die biologische Wertigkeit von Kuhmlich. *Elemente d. N. 75*, S. 48–60.
- Kretschmer, S. (2003):* Establishing a scientific method – according to principles of sensory analysis – for the visual evaluation of crystal pictures derived from copper chloride crystallization. Master-Thesis, University of Kassel, FB 11, Witzenhausen.
- Kromidas, S. (2000):* Handbuch Validierung in der Analytik, Weinheim, New York.
- Nitschmann, G. (1993):* Gedanken zur empfindlichen Kristallisation mit Kupferchlorid ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). *Elemente d. N. 58*, S. 14–19.
- Pettersson, B. D. (1967):* Beiträge zur Entwicklung der Kristallisationsmethode mit Kupfer-Chlorid nach Pfeiffer. *Lebendige Erde 1*, S. 15–31.
- Pfeiffer, E. (1930):* Kristalle. Stuttgart.
- Selwary, A., Selwary, O. (Hg.) (1957):* Die Kupferchloridkristallisation in Naturwissenschaft und Medizin. Stuttgart.
- Steffen, W. (1983):* Untersuchungen zu den experimentellen und physikalisch-chemischen Grundlagen der Steigbildmethode. *Elemente d. N. 38*, S. 36–49.
- Strüh, H. J. (1987):* Grundlegende Phänomene bei der Ausbildung der Steigbildform. Bildtypen und pharmazeutische Prozesse. *Elemente d. N. 46*, S. 22–47.
- Tauscher, B. et al. (2003):* Bewertung von Lebensmitteln verschiedener Produktionsverfahren. Statusbericht 2003. Senatsarbeitsgruppe „Qualitative Bewertung von Lebensmitteln aus alternativer und konventioneller Produktion“.
- Zalecka, A. (2006):* Entwicklung und Validierung der Steigbildmethode zur Differenzierung von ausgewählten Lebensmitteln aus verschiedenen Anbausystemen und Verarbeitungsprozessen. Dissertation. Universität Kassel, FB 11, Witzenhausen (in Vorbereitung).

Johannes Kahl, Nicolaas Busscher, Angelika Ploeger
 Universität Kassel, FG Lebensmittelqualität und Ernährungskultur, Nordbahnhofstrasse 1a, D-37213 Witzenhausen
 kahl@uni-kassel.de