

Bericht zur
Hauptstudie
ZES® FRESHNESS-PAD
mit integrierter ZES®-Technologie

19.09.2022

Wieland Lackinger B.Sc.; Techn. Physik
Forschungsprojekt Aquaphotomics
Johannes Kepler Universität, Linz

DI Mag. Dr. Pierre Madl Postdoc;
Institut für Physik und Biophysik,
Paris Lodron Universität, Salzburg

In Abstimmung mit
Prof. Dr. Roumiana Tsenkova;
Forschungsabteilung Aquaphotomik,
Kobe University, Japan

Einleitung

Zwei Modelle des „ZES® FRESHNESS-PAD¹“ mit integrierter ZES®-Technologie wurden getestet, ob Obst- und Gemüseprodukte durch dessen Anwendung länger frisch bleiben. Dabei konnte von den Durchführenden² in einem ersten Durchgang festgestellt werden, dass die ZES®-behandelten Bananen nach Ablauf des Versuchszeitraumes wesentlich frischer aussahen, weniger braun waren und den Verderb Prozess verlangsamten. Um diesen Befund wissenschaftlich abzusichern, bediente man sich in dieser Untersuchung der Nah-Infrarot-Spektroskopie (NIRS) und nutzte eine Auswertungsmethode, welche von den Experten der „Aquaphotomics“-Gruppe entwickelt wurde.³ Dieser methodische Ansatz entstammt der Landwirtschaft und konnte in den vergangenen Jahrzehnten breitflächig auch auf anderen Gebieten seine Einsatztauglichkeit beweisen. Die Wahl fiel unter anderem darauf, als diese Methode dazu verwendet wird, die Qualität von Lebensmitteln zu untersuchen. Die vorliegende Studie zielte darauf ab, eine **strukturelle Veränderung des Wassers im Obst/Gemüse** – verursacht durch die objektnahe Platzierung eines ZES®-Technologie – nachzuweisen. Die feldverändernde Wirkung der Chips und damit deren Einfluss auf das Lebensmittel müsste sich demnach in leicht abgeänderten Spektren wiederfinden lassen.

¹ <https://zes-bodyguard.com/products/zes-bodyguard-80-allrounder>

² Michael Brandl, Pierre Madl

³ <https://www.aquaphotomics.com/aquap2/>

Standardisiertes Ablauf-Verfahren (Standard Operation Procedure, SOP)

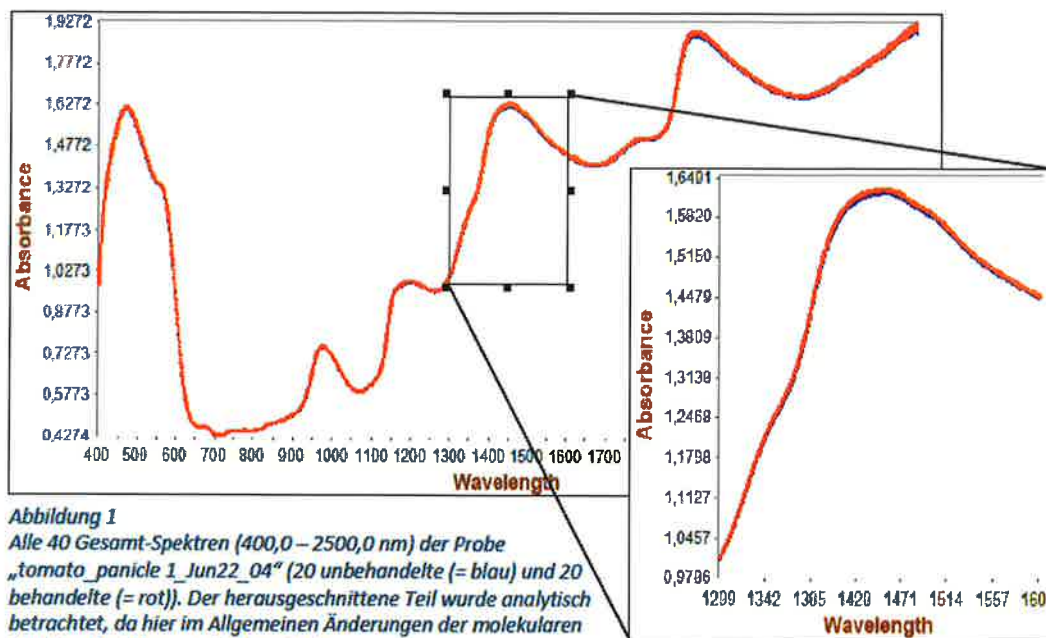
Nach drei Versuchsreihen, der dazugehörigen Auswertung, Recherche und Beratung mit Prof. Tsenkova⁴ – Gründerin von Aquaphotomics – konnte innert einiger Monate ein SOP erarbeitet werden, welches die notwendige Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der Messungen gewährleisten konnte. Als Testobjekte wurden Rispentomaten als praktikable Versuchsobjekte identifiziert und daher intensiver untersucht.

Ausgangszustand: Laborant 1 und die unbehandelten Tomaten befinden sich in Raum 1. Laborant 2 und der ZES[®]-Chip befinden sich in Raum 2. Das Messinstrument (NIR-Spektrometer) befindet sich in Raum 3.

Ablauf eines Experiments: Laborant 1 nimmt Tomate 1 (unbehandelt), geht in Raum 3 und führt 20 aufeinanderfolgende Messungen (1 Scan pro Messung) durch → Laborant 1 belässt die Tomate im Messinstrument unverändert und begibt sich in Raum 1 → Laborant 2 betritt mit dem ZES[®]-Chip Raum 3, platziert diesen oberhalb von der in der Messkammer befindlichen Tomate (ohne letztere dabei in deren Position zu verändern) und führt ebenso 20 aufeinanderfolgende Messungen (1 Scan pro Messung) durch → Laborant 2 entnimmt diese Tomate samt ZES[®]-Chip und zieht sich in Raum 2 zurück → der Zyklus beginnt von Neuem mit der nächsten, unbehandelten Tomate

Ergebnisse

Analysiert wurde ausschließlich der Wellenlängen-Bereich zwischen 1300 und 1600 nm, da hier im Allgemeinen eine strukturelle Änderung des Wassers zu erwarten ist (Abb. 1).⁵

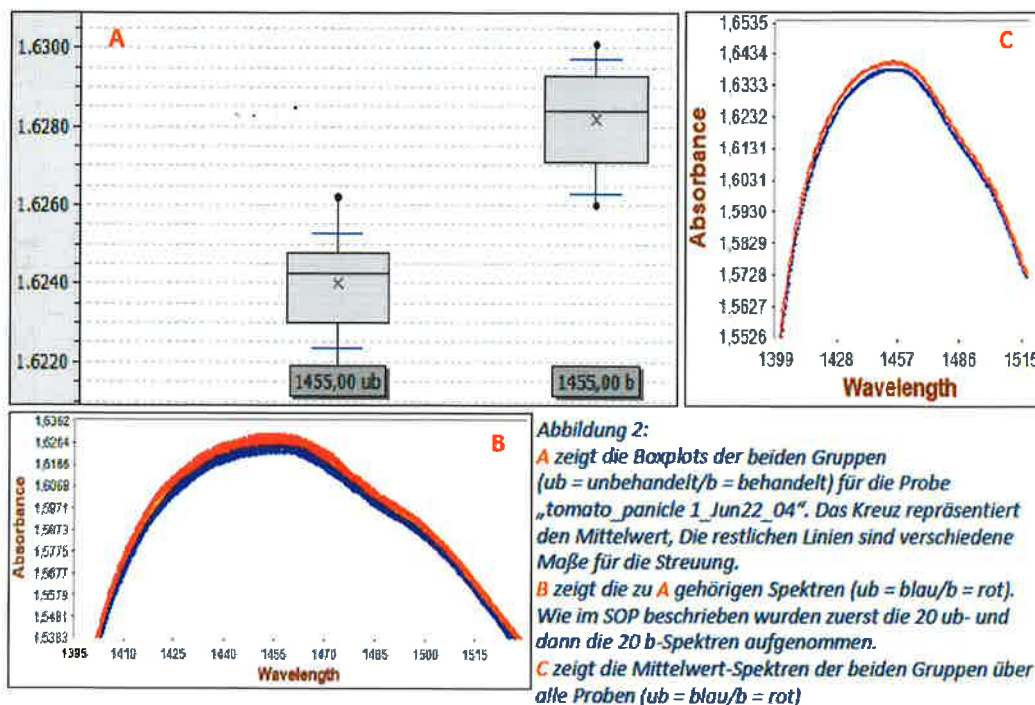


Mit steigender Zahl der Messungen tritt unabhängig von der ZES[®]-Behandlung eine leichtzunehmende Absorption auf (Abb. 2B). Ein „satter“ Sprung zwischen den Gruppen (Chip-behandelt/unbehandelt) konnte nur bei einer Probe beobachtet werden.

⁴ <https://www.aquaphotomics.com/aquaphotomics-founder/>

⁵ Muncan J, Tsenkova R (2019) Aquaphotomics—From Innovative Knowledge to Integrative Platform in Science and Technology, *Molecules*, 24, 2742; doi:10.3390/molecules24152742

Es war zu erwarten, dass die gesuchten Änderungen der Spektren durch die ZES®-Behandlung sehr subtil sein würden. Um diese herauszuarbeiten, griff man daher in der Auswertung auf statistische Methoden zurück,⁶ welche eine mathematische



Verarbeitung der Spektren implizieren.⁷ Damit ließen sich jene Wellenlängen identifizieren, die für den Trend über alle 40 Messungen (behandelte + unbehandelte Tomate) bestimmend sind (aktivierte Wellenlängen). Ein Classifier wurde erstellt, der eine unbekannte Probe der jeweiligen Gruppe (Chip-behandelt/unbehandelt) zuordnen lässt. Dieser Classifier wies eine Genauigkeit von 89,72% auf, benötigte dazu allerdings 10 Faktoren – was diesen zu einem unterdurchschnittlich guten Classifier macht (in diesem Fall allerdings der bestmögliche). Dadurch wurden wiederum diejenigen Wellenlängen herausgearbeitet, die für die Unterscheidung zwischen den beiden Gruppen ausschlaggebend sind (aktivierte Wellenlängen).

Die Intensitäts-Mittelwerte der beiden Gruppen bei 1455,0 nm (eine aktivierte Wellenlänge) sind in Abb. 2A (im Boxplot dargestellt). Es ist klar ersichtlich, dass sie sich signifikant unterscheiden. Statistische Tests⁸ bestätigen dies ebenfalls für die beiden relevantesten aktivierten Wellenlängen (1379,5 nm; 1455,0 nm). Die Standardabweichungen der beiden Gruppen für diese Wellenlängen gleichen sich. Auch die Gesamt-Mittelwert-Spektren der beiden Gruppen zeigen einen deutlichen Unterschied (Abb. 2C).

In Abb. 3 sind die Spektren einer Probe der Messreihe aus dem April 2022 dargestellt. Hier wurde keine ZES®-Behandlung durchgeführt und trotzdem ist ein eindeutiger, gradueller aufwärts-Drift zu erkennen (nicht sprunghaft wie in Abb. 2 dargestellt).

⁶ Principal Component Analysis (PCA), Partial Least Square Discriminant Analysis (PLSDA)

⁷ 2. Ableitung

⁸ Shapiro Wilk Test, 2 sample F Test, 2 sample t Test (in diesem Berichtteil nicht explizit dargestellt)

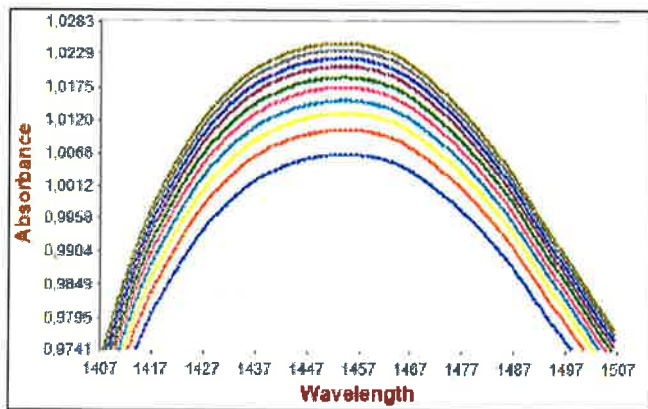


Abbildung 3
 Referenzmessung aus der Versuchsreihe im April 2022. Hier wurde eine ganze Perle 10 mal in Folge gemessen, ohne die Probe mit dem ZES-Chip zu behandeln. Es wurden pro Messung 32 Scans gemacht (nicht nur einer, wie bei der Messreihe im Juni). Dadurch ist ein schöner Drift erkennbar, der keinen unregelmäßiger Trend aufweist. Zeitliche Abfolge der Messungen: beginnend mit blau – rot – gelb – türkis – lila – grün – violett – blau – grau – grün.

Conclusio

Wie aus Abb. 2 deutlich ersichtlich, unterscheiden sich die Gruppen der Einzelmessungen der Spektren der behandelten und unbehandelten Proben. Die Mittelwerte der einzelnen Proben, die Mittelwerte aller Proben (jeweils für die beiden Gruppen) und die statistischen Tests für die aktivierten Wellenlängen bestätigen diesen Unterschied. Eine Einordnung einer unbekannt Probe in die beiden Gruppen durch einen Classifier ist möglich. Dies ließe folgern, dass strukturelle Unterschiede im Wasser der Frucht - induziert durch die ZES[®]-Chip-Behandlung - detektierbar sind.

Die Wellenlängen, die der Klassifizierung der beiden Gruppen zugrunde liegen, decken sich mit denjenigen, die sich während des Trends am stärksten verändern. Die Standardabweichungen der Gruppen (behandelt/unbehandelt) für die jeweiligen Proben an den aktivierten Wellenlängen gleichen sich ebenso. Aus Abb. 3 geht des Weiteren hervor, dass ähnliche Änderung der Spektren (wie die in Abb. 2) auch durch hintereinander ausgeführte Messungen auftreten. Dies könnte man derart interpretieren, dass die deutlichen Unterschiede der Mittelwerte auch ohne Chip-Exposition induziert werden. Um dies auszuschließen, wurde eine Absicherung der statistischen Interpretation von Prof. Dr. Roumiana Tsenkova, vorgenommen, die auf diesem Gebiet bereits auf eine über 30-jährige Erfahrung zurückgreifen kann. Prof. Tsenkova gründete das Aquaphotomik-Forschungszentrum an der Universität Kobe, das erste in der Welt, das sich ausschließlich mit Aquaphotomik-Studien befasst.

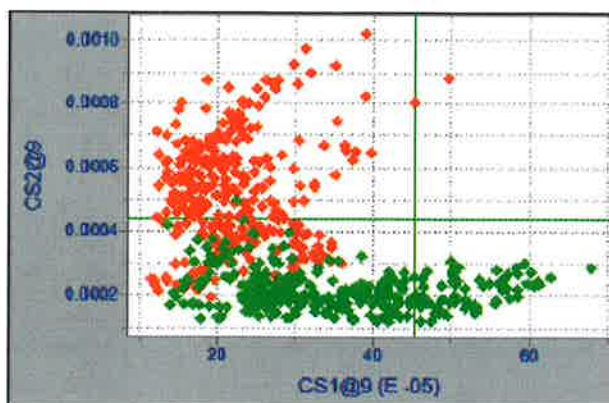


Abbildung 4
 Jeder Punkt stellt eine Messung (Spektrum) dar. Die Farben kennzeichnen die beiden Gruppen (behandelt/unbehandelt). Eine Zentrierung der unterschiedlich-farbigen Punktwolken um jeweils andere Zentren ist klar ersichtlich.

Dafür wurde Prof. *Tsenkova* vollumfänglich über den Ablauf der Experimente informiert. Dies führte dazu, dass sie die Daten anhand einer weiteren Klassifizierungsmethode auswertete (Abb. 4),⁹ welche die beste Wahl für den vorliegenden Untersuchungsgegenstand darstellt und eine signifikante Unterscheidung der beiden Gruppen (behandelt vs. unbehandelt) zulässt. Prof. *Tsenkova* folgert daraus, dass es einen strukturellen Unterschied im Wasser der Frucht durch die ZES[®]-Chip-Behandlung gibt. Dies lässt die höchstwahrscheinliche Annahme zu, dass durch die Anwendung der ZES[®]-Technologie gemäß in der Feldstudie dokumentierten Ergebnissen, den Verderb Prozess bei den untersuchten Obst und Gemüse signifikant verlangsamt und die Produkte wesentlich länger frisch bleiben.

Unterschrift von:


DI Mag. Dr. Pierre Madl