

Technische Universität München

Institut für Lebensmitteltechnologie und Analytische Chemie
Lehrstuhl für Chemisch-Technische Analyse und Chemische Lebensmittel-
technologie

Entwicklung und Realisierung eines Sensorsystems auf massenspektrometrischer Basis

Brigitte Dittmann

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weißenste-
phan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität
München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. R. Meyer-Pittroff

Prüfer der Dissertation: 1. apl. Prof. Dr. S. Nitz
2. Univ.-Prof. Dr. E. Geiger
3. Univ.-Prof. Dr. H. Parlar

Die Dissertation wurde am 14.12.2000 bei der Technischen Universität Mün-
chen eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weißenste-
phan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität
München am 27.04.2001 angenommen.

Brigitte Dittmann

**Entwicklung und Realisierung
eines Sensorsystems
auf massenspektrometrischer Basis**

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von Januar 1996 bis Oktober 2000 am Institut für Lebensmitteltechnologie und Analytische Chemie der Technischen Universität München, Lehrstuhl für Chemisch-Technische Analyse und Chemische Lebensmitteltechnologie in Freising-Weihenstephan unter der Leitung von

Herrn Professor Dr. Siegfried Nitz.

Meinem Doktorvater gilt mein besonderer Dank für die Bereitsstellung des sehr interessanten Themas, für die stete wissenschaftliche Betreuung und das mir entgegenbrachte Vertrauen und Wohlwollen. Die großzügige Förderung ebenso wie die fachliche und persönliche Unterstützung haben maßgeblich zum Erfolg dieser Arbeit beigetragen.

Herrn Prof. Dr. Parlar danke ich insbesondere für seine uneingeschränkte Unterstützung und sein wohlwollendes Interesse an dieser Arbeit ebenso wie für die freundliche Aufnahme am Lehrstuhl für Chemisch-Technische Analyse.

Der Firma Best Foods danke ich für die finanzielle Förderung, Herrn Dr. Martin Spraul für seine freundliche Zusammenarbeit.

Weiterhin möchte ich mich bei allen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben

- Herrn Dipl. Ing. Hubert Kollmannsberger für sein persönliches Engagement und seine Unterstützung bei der Durchführung zahlloser Sniffing-GC-MS-Analysen im Rahmen des Olivenöl-Projekts sowie die Bereitstellung seines übernatürlichen Wissens auf dem Gebiet der Aroma-Analytik.
- Frau Bettina Zimmermann und Frau Christa Lachermeier für ihre kollegiale Zusammenarbeit in der MS-Abteilung.
- Frau Dipl. Ing. Barbara Maier und Frau Dipl. Ing. Sabine Binder für ihre freundschaftliche Zusammenarbeit und persönliches Engagement während der Anfertigung ihrer Diplom- bzw. Semesterarbeiten.
- Frau Dr. Daniela Angerhöfer für ihren germanistischen Sachverstand.
- den Doktoranden der ersten Stunde Dr. Stefan Wechner, Kai Rechtenbach, Dr. Frank Behre, Dr. Frank Otto, Dr. Martin Klein und (bald Dr.) Carsten Zeidler für

die schöne Zeit inner- und außerhalb des Labors, insbesondere Dr. Daniel „Lord of the Board“ Schulz-Jander für das Aufzeigen nichtwissenschaftlicher winterlicher Freizeitgestaltungsmöglichkeiten.

- den Doktoranden der zweiten Stunde Frank Stückrath und Mattias Meissner für das Gewähren wissenschaftlichen Asyls.
- allen Kollegen bei HKR, insbesondere Dr. Gerhard Horner und Dipl. Ing. Markus Reichl für die unkomplizierte und relaxte Zusammenarbeit, Dr. Gerhard Niebling für seine Geduld in n-dimensionalen Räumen, der Software-Abteilung = Michael „der Konvertor“ Stammberger für die grandiose Software-Unterstützung und Dipl.-Phys. Uli Kreß für sein unermüdliches Engagement und technisches Know-How bei der Behebung von PC-bedingten Hürden.
- Frau Dr. Daniela „Antiteilchen“ Gabriel in memoriam zahlloser Abende in der Olytheke

.... und natürlich Udo, dem allerliebsten Menschen auf diesem Erdball.

Meinen Eltern

I	Einleitung und Aufgabenstellung.....	1
II	Theoretische Aspekte der Multi-Sensor-Array-Technik.....	5
1.	Stand der Technik zur Entwicklung und zum Einsatz von Chemosensoren.....	5
1.1	Übersicht über gängige Sensortechniken.....	5
1.2	Einsatzgebiete von Multi-Sensor-Arrays.....	7
1.2.1	Untersuchung von Lebensmitteln.....	7
1.2.2	Anwendungen in der Umweltanalytik.....	10
2.	Signalverarbeitung und Datenauswertung.....	11
2.1	Signalverarbeitung.....	11
2.2	Datenauswertung mit multivariaten Verfahren.....	11
2.2.1	Hauptkomponentenanalyse.....	13
2.2.2	Diskriminanzanalyse.....	18
2.2.2.1	Hauptachsentransformation der Stoffklassifikation.....	18
2.2.2.2	Klassifikatoren.....	20
2.2.3	Stichprobenumfang und Dimensionalität in Klassifikationsverfahren..	22
2.2.4	PLS-Verfahren	24
III	Konzeptionelle Aspekte und theoretische Grundlagen des MS-Sensors.....	27
1.	Konzept des MS-Sensors.....	27
1.1	Aufbau und Meßprinzip.....	27
1.2	Strömungsverhältnisse.....	28
1.3	Meßsignal bei Direktinjektion des Dampfraumgases.....	30
2.	Grundlegende Aspekte der Auswertung massenspektrometrischer Signale mit multivariaten Methoden.....	33
3.	Vorteile des MS-Sensors.....	35
IV	Apparativer Aufbau des verwendeten MS-Sensorsystems.....	37
1.	Aufbau des Gesamtsystems.....	37
2.	Headspace-Probenaufgabesystem.....	39

3.	Strömungsverhältnisse.....	42
3.1	Apparative Rahmenbedingungen.....	42
3.2	Strömungskennzahlen.....	43
4.	Leistungsfähigkeit der Arbeitsweise und Apparatur.....	44
4.1	Meßsignal.....	44
4.2	Wiederholbarkeit.....	45
4.3	Linearität.....	45
4.4	Empfindlichkeit.....	48
4.5	Zusammenfassung.....	52
V	Entwicklung einer Strategie zur Untersuchung komplexer Stoffgemische mit dem MS-Sensor.....	53
1.	Klassische Strategien beim Einsatz herkömmlicher Chemosensoren.....	53
2.	Entwicklung einer speziellen Strategie für den Einsatz des MS-Sensors.....	54
2.1	Voraussetzungen für die Entwicklung.....	54
2.2	Vorgehensweise.....	55
2.3	Signalauswertung und Mustererkennung.....	59
2.4	Validierung der Strategie am Zweikomponenten-Modellsystem.....	61
2.4.1	Bestimmung der Headspacezusammensetzung.....	62
2.4.2	Auswahl des Sensorarrays.....	63
2.4.3	Sensormessungen und Mustererkennung.....	63
2.4.4	Rechnerische Herleitung der Signalmuster.....	67
2.4.5	Zusammenfassung.....	69
VI	Einsatz des MS-Sensors zur Untersuchung von Lebensmitteln und Lebensmittelbedarfsgegenständen.....	70
1.	Nachweis des Fettverderbs.....	70
1.1	Einleitung.....	70
1.2	Entwicklung der Meßmethode für den MS-Sensor.....	73
1.2.1	Bestimmung der Headspacezusammensetzung.....	74
1.2.2	Auswahl der Fragmentionen für das Sensor-Array.....	75
1.2.3	Sensormessungen und Mustererkennung.....	78
1.3	Diskussion.....	81
2.	Lagerungsbedingte Veränderung bei Gewürznelken.....	84
2.1	Einleitung.....	84
2.2	Entwicklung der Meßmethode für den MS-Sensor.....	85

2.2.1 Bestimmung der Headspacezusammensetzung.....	86
2.2.2 Auswahl der Fragmentionen für das Sensor-Array.....	87
2.2.3 Aufnahme des SIM-Profiles mittels HS-GC-MS.....	87
2.3 Sensormessungen und Mustererkennung.....	89
2.4 Diskussion.....	90
3. Rosenöle.....	93
3.1 Einleitung.....	93
3.2 Entwicklung der Meßmethode für den MS-Sensor.....	95
3.2.1 Bestimmung der Headspacezusammensetzung.....	95
3.2.2 Auswahl der Fragmentionen für das Sensor-Array.....	99
3.2.3 Ermittlung des Ionenspuren-Profiles mittels HS-GC-MS.....	100
3.2.4 Sensormessungen und Mustererkennung.....	102
3.2.5 Rechnerische Herleitung der Signalmuster.....	106
3.3 Diskussion.....	106
4. 2,4,6-Trichloranisol in Korkmaterial.....	111
4.1 Einleitung.....	111
4.2 Entwicklung der Meßmethode für den MS-Sensor.....	113
4.2.1 Bestimmung der Headspacezusammensetzung.....	114
4.2.1.1 Nicht beanstandeter Korken.....	114
4.2.1.2 Beanstandeter Korken.....	115
4.2.2 Auswahl der Fragmentionen für das Sensor-Array.....	115
4.2.3 Aufnahme des SIM-Profiles mittels HS-GC-MS.....	115
4.2.4 Sensormessungen und Mustererkennung.....	116
4.3 Diskussion.....	119
5. Differenzierung von Hopfensorten.....	121
5.1 Einleitung.....	109
5.2 Entwicklung der Meßmethode für den MS-Sensor.....	123
5.2.1 Bestimmung der Headspacezusammensetzung.....	124
5.2.1.1 Headspacezusammensetzung der Mischproben.....	124
5.2.1.2 Headspacezusammensetzung der Einzelproben.....	125
5.2.2 Auswahl der Fragmentionen für das Sensor-Array.....	127
5.2.3 Aufnahme des SIM-Profiles mittels HS-GC-MS.....	127
5.2.4 Sensormessungen und Mustererkennung.....	129
5.3 Diskussion.....	136
VII Ausblick.....	139

VIII	Zusammenfassung.....	144
IX	Experimenteller Teil.....	148
	1. Instrumentelle Ausstattung.....	148
	1.1 Massenspektrometer.....	148
	1.1.1 GC-MS Interface.....	149
	1.1.2 Eingangsverschraubung des Massenspektrometers.....	149
	1.2. Gaschromatographie.....	151
	2. Analytische Methoden.....	151
	2.1 HS-GC-FID der flüchtigen Inhaltsstoffe.....	151
	2.2 HS-GC-MS zur Substanzidentifizierung.....	152
	2.3 HS-GC-MS zur Aufnahme der SIM-Profile.....	153
	2.4 HS-MS-Analyse (Sensor-MS-Messungen).....	154
	2.5 Mustererkennung.....	154
	2.6 Bestimmung der Peroxidzahl.....	154
X	Literaturverzeichnis.....	156

Abkürzungsverzeichnis

amu	engl.: atomic mass unit
CI	Chemische Ionisation
df	Schichtdicke der gaschromatographischen Trennflüssigkeit
EI	Elektronenstoß-Ionisation
FID	Flammenionisationsdetektor
GC	Gaschromatographie
HS	engl.: Headspace
i.D.	innerer Durchmesser
l	Länge
L	Strömungsleitwert
MS	Massenspektrometrie
m/z	Verhältnis der Masse zur Ladung
NCI	Negative Chemische Ionisation
n.i.	nicht identifiziert
n.n.	nicht nachweisbar
n.b.	nicht bestimmt
PCI	Positive Chemische Ionisation
POZ	Peroxidzahl
ppm	parts per million
RI	Retentionsindex
S	Spurenkomponente
SIM	engl.: Selected Ion Monitoring
TKW	Terpenkohlenwasserstoff

I Einleitung und Aufgabenstellung

Ein Sensor ist, einer auch nach heutigen wissenschaftlichen Maßstäben noch zeitgemäßen Definition nach Wolber und Wise (1989) zufolge,

“a single-parameter measuring instrument which transduces a physical parameter into a corresponding electrical signal with significant fidelity”

Diese Beschreibung ist, ebenso wie frühere Beschreibungen von Norton (1982) und der IEC draft 65/84 (1982), angelehnt an die Definition der Instrumental Society of America aus dem Jahr 1975. Derzufolge sind Transducer bzw. Sensoren

“devices which produce a usable output in response to a specified measurand”

[„Electrical Transducer Nomenclature and Terminology“, ANSI Standard MC6.1-1975].

In der modernen Analytik sind Sensoren unverzichtbare Instrumente zur Messung verschiedenster chemischer Stoffe und Stoffgruppen, zur Bestimmung physikalischer Größen und zur Charakterisierung stofflicher Zustände. Dabei sind im Hinblick auf deren Aufbau, Funktionsweise und Anwendungsgebiet eine Vielzahl von Sensoren im Einsatz.

Festkörpersensoren dienen zur Bestimmung und zum Nachweis unterschiedlichster Chemikalien und werden u. a. zur Immissionsüberwachung und zur Prozeßkontrolle in der chemischen Industrie eingesetzt. Biosensoren verwendet man in der Rückstandsanalytik zur Messung von Pestiziden, in der klinischen Diagnostik zur Analyse der Atemluft und zur Bioprozesskontrolle in Fermentationsanlagen. Mechanische, optische und magnetische Sensoren werden in unterschiedlichsten Funktionen nicht nur in der industriellen Praxis und in der naturwissenschaftlichen Forschung eingesetzt, sie sind vielmehr millionenfach in tagtäglich verwendeten Haushaltsprodukten integriert. Eine Übersicht über Sensoren und deren Anwendungsgebiete geben Göpel und Schierbaum [1991].

Mit der Entwicklung leistungsfähiger Computer zur Verarbeitung und Auswertung großer Datenmengen haben sogenannte Multi-Sensor-Arrays seit den frühen 80er

Jahren einen ungeheuren Aufschwung erlebt. Es handelt sich dabei um Systeme, deren Meßzelle aus einer Kombination mehrerer Einzelsensoren besteht. Während bei Einzelsensor-Systemen die Meßgröße direkt mit der Probeneigenschaft korreliert ist, besteht bei Systemen auf Basis von Multi-Sensorarrays kein derartiger Zusammenhang. Hier werden die von den einzelnen Sensoren eines Arrays gelieferten Meßdaten verarbeitet und anschließend mittels Verfahren der multivariaten Datenanalyse ausgewertet (Abb. I.1).

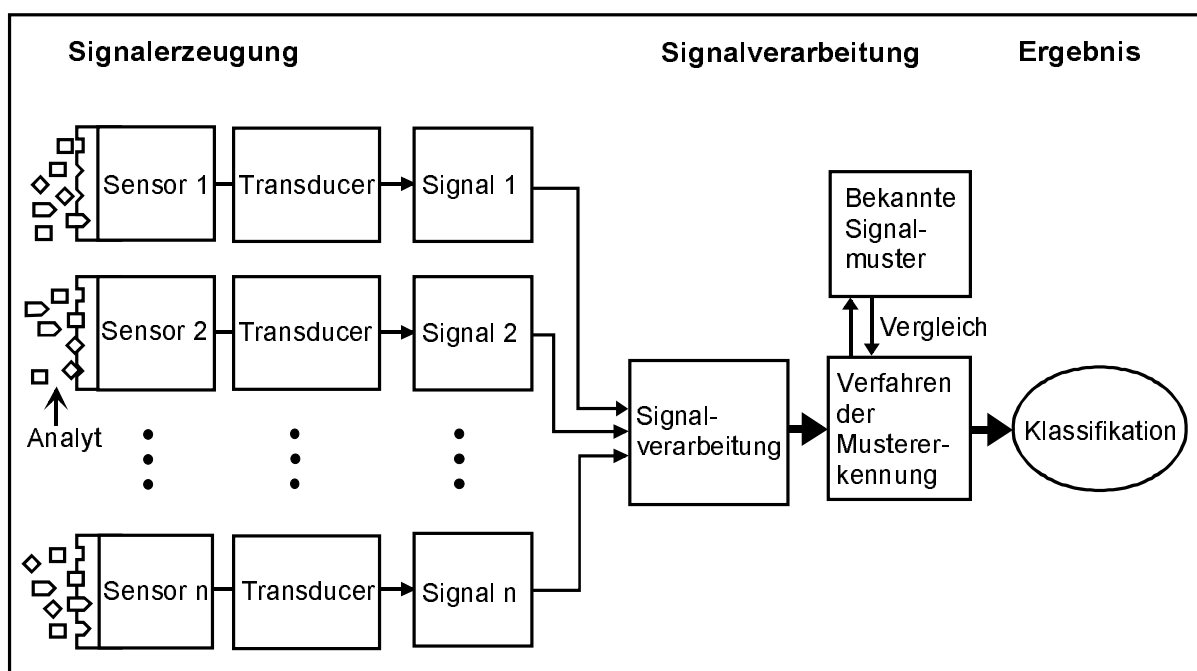


Abb. I.1: Schematischer Aufbau und Funktionsweise eines Multi-Sensor Arrays

Unabhängig von der Art der verwendeten Einzelsensoren sollen Sensorsysteme auf Multi-Array-Basis eine Reihe von Anforderungen erfüllen. Neben hoher Empfindlichkeit und Selektivität für die zu detektierenden Substanzen sollen die in der Anordnung eingesetzten Chemosensoren ein schnelles Ansprechverhalten, lange Lebensdauer und möglichst geringe Neigung zur Drift aufweisen. Mechanische Stabilität sowie eine gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse sind ebenso unverzichtbar wie die Unabhängigkeit der Sensorenleistungen von äußeren physikalischen Parametern, wie z. B. Luftfeuchtigkeit oder Umgebungstemperatur. Alle diese Anforderungen an die Einzelsensoren sind als Grundvoraussetzungen für deren Leistungsfähigkeit zu betrachten, jedoch erst die Kombination einer bestimmten Zahl unter-

schiedlich selektiver Einzelsensoren zum Array legt Eigenschaften und Anwendungsbereich des Gesamtsystems fest.

Für den routinemäßigen Einsatz von Sensorsystemen ist es vorteilhaft, wenn Fragestellungen aus den unterschiedlichsten Bereichen der industriellen Praxis mit demselben System bearbeitet werden können. Insofern wäre die Möglichkeit zur freien Auswahl der im Array zu verwendenden Sensoren wünschenswert, da man diesen dann hinsichtlich Größe und Selektivität der Einzelsensoren flexibel jedem Meßproblem anpassen könnte. Dies käme auch dem Wunsch des Anwenders nach einem möglichst vielseitig einsetzbaren System sehr entgegen.

Beim Einsatz in der industriellen Praxis sind Eigenschaften wie Bedienerfreundlichkeit und leichte Kalibrierbarkeit vorteilhaft, da sie die Handhabung selbst durch ungeschultes Personal ermöglichen. In diesem Zusammenhang sollten in einem Sensorsystem deshalb auch möglichst einfache Verfahren der Probenahme eingesetzt werden, so daß auf eine langwierige vorherige Probenaufbereitung verzichtet werden kann. Ebenso sind Mobilität bzw. flexible Einsetzbarkeit wünschenswert. Besondere Aufmerksamkeit kommt daher der Miniaturisierbarkeit und der Möglichkeit der Schaffung portabler Systeme zu. Wirtschaftliche Aspekte wie geringe Produktionskosten für einzelne Sensoren und Bauteile sowie ein niedriger Preis für die jeweiligen Gesamtsysteme spielen für die Verbreitung dieser Technologie eine entscheidende Rolle, da diese Kriterien ausschlaggebend für die Eroberung neuer Märkte sind. Man sollte ihnen daher ebenfalls Beachtung schenken.

Die kommerziell erhältlichen Sensorsysteme auf Multi-Array-Basis haben bis dato noch einige entscheidende Mängel. Diese rühren daher, daß Festkörperchemosensoren wie z. B. Metalloxidsensoren oder Polymersensoren als Sensorelemente herangezogen werden. Einige dieser Bauteile weisen Querempfindlichkeiten, nichtlineare Sensorcharakteristiken und geringe Empfindlichkeiten auf, andere zeigen eine starke alterungsbedingte Signaldrift oder Vergiftungserscheinungen. Bedingt durch die jeweiligen Einzelsensoren sind daher auch die Gesamtsysteme mit Nachteilen wie mangelnder Selektivität, geringer Langzeitstabilität und schlechter Reproduzierbarkeit der Signale behaftet.

Ziel dieser Arbeit war es, ein neuartiges Konzept der Sensor-Massenspektrometrie in die Tat umzusetzen. Dabei sollte ein Sensorsystem (MS-Sensor) geschaffen werden, das in Bezug auf den Meßablauf und die Datenauswertung an die gängigen Multi-Sensor-Array-Sensorsysteme angelehnt ist, sich jedoch durch die Verwendung der Massenspektrometrie als Sensortechnik maßgeblich von herkömmlichen Chemosensorsystemen abhebt. Insbesondere sollte mit der Realisierung des MS-Sensors den soeben beschriebenen Anforderungen an arraybasierte Sensorsysteme soweit wie möglich Rechnung getragen werden.

Zu diesem Zweck sollte zunächst ein Headspace-Massenspektrometer-System („MS-Sensor“) realisiert werden. Das HS-MS-System sollte dazu verwendet werden, komplexe gasförmige Stoffgemische in ein Massenspektrometer zu überführen, ohne sie gaschromatographisch in ihre Bestandteile aufzutrennen. Headspace-Autosampler und Massenspektrometer, die zum HS-MS-System gekoppelt werden sollten, waren kommerziell erhältlich. Die Gesamt-Massenspektren der zu untersuchenden Stoffgemische sollten mittels Hauptkomponentenanalyse ausgewertet werden. Hierfür stand ein kommerzielles Computerprogramm zur Verfügung. Um die massenspektrometrischen Rohdaten in ein Datenformat zu überführen, das deren Verarbeitung mit dem kommerziell erhältlichen Softwarepaket ermöglicht, wurde ein spezielles Computerprogramm benötigt. Dieses Konvertierungsprogramm sollte im Rahmen der vorliegenden Arbeit geschrieben werden.

Die Einsatzmöglichkeiten der Sensor-Massenspektrometrie zur Identitäts- und Qualitätsprüfung von Lebensmitteln und Lebensmittelbedarfsgegenständen sollten an ausgewählten Anwendungsbeispielen überprüft werden. Dies machte es notwendig, eine spezielle Strategie zur Untersuchung komplexer Stoffgemische mit dem MS-Sensor zu entwickeln. Die Auswahl des Untersuchungsmaterials richtete sich zum einen danach, daß möglichst viele unterschiedliche Probenmatrices untersucht werden sollten. Zum anderen sollten Fragestellungen mit humansensorischer Relevanz bearbeitet werden.

II Theoretische Aspekte der Multi-Sensor-Array-Technik

1. Stand der Technik zur Entwicklung und zum Einsatz von Chemosensoren

1.1 Übersicht über gängige Sensortechnologien

Trotz der Vielfalt der heute gebräuchlichen Einzelsensoren werden in Multi-Sensor-Arrays hauptsächlich drei Typen von Sensorelementen verwendet: Metalloxid-Sensoren, Sensoren auf Basis organischer Polymere und massesensitive Sensoren. Eine Übersicht über physikochemische Vorgänge bei der Signalerzeugung, Meßgrößen sowie Charakteristika dieser Technologien gibt Tabelle II.1.

Tab. II.1: Vergleich gebräuchlicher Sensortechnologien

Sensortyp	Gassensitive Schicht	Physikochemische Vorgänge bei der Signalerzeugung	Meßgröße	Gebräuchliche Materialien
Metalloxid-Halbleiter	gesinterte und dotierte Metalloxidschicht	Oxidation des Analyten durch Reaktion mit chemisorbiertem Sauerstoff an der Oberfläche der Metalloxidschicht führt zu Änderung der Leitfähigkeit	Widerstand	SnO ₂ dotiert mit Seltenerd-Elementen (Taguchi-Sensor)
Organische Polymere in Chemoresistoren	leitende organische Polymerschicht auf Gold-Elektroden	Weitgehend unbekannt. Diskutiert werden folgende, durch Wechselwirkung mit dem Analyten verursachte Änderungen der Leitfähigkeit: 1. Oxidation (Reduktion) der Polymerschicht durch Erzeugung (Wegnahme) von Ladungsträgern 2. Veränderung der Mobilität der geladenen Polykationen bzw. der Gegenionen 3. Veränderung des ketteninternen Ladungsübergangs bzw. des Ladungsübergangs zwischen Polymerschicht und (Gold-) Elektrode	Widerstand	Polypyrrole, Polyaniline
Massesensitive Sensoren 1. polymerbeschichtete Schwingquarze bis 30 MHz Schwingungsfrequenz (BAW, QMB) 2. polymerbeschichtete Schwingquarze mit Schwingungsfrequenzen > 30 MHz (SAW)	1. Beschichtung aus organischen Polymeren (Dickfilm) 2. Beschichtung aus organischen Polymeren (Dünnschicht)	Erniedrigung der Schwingungsfrequenz der Schwingung durch: 1. Volumenschwächung (BAW, QMB) bzw. durch Einlagerung von Analytmolekülen in die gassensitive Beschichtung bei Einstellung des thermodynamischen Verteilungsgleichgewichtes 2. Oberflächenschwächung (SAW)	Schwingungsfrequenz	Quarzkristall, beschichtet mit: • GC-Phasen (DB 5, OV 1, OV 17 etc.) • organischen Polymeren auf Pyrrrolbasis • Lipiden

1.2 Einsatzgebiete von Multi-Sensor-Arrays

Die Entwicklung und Kommerzialisierung von Multi-Sensor-Arrays wurde maßgeblich von modernen Bestrebungen zur Entwicklung einfacher und zeitsparender Meßtechniken und Analysemethoden vorangetrieben. Besonders vielversprechend erscheint der Einsatz von Multi-Sensor-Arrays in Bereichen mit hohem Probenaufkommen, denn diese schnelle und verhältnismäßig günstige Meßtechnik bringt eine erhebliche Zeitersparnis und somit Kostenreduzierung gegenüber althergebrachten Analysemethoden mit sich. Große Probendurchsätze fallen vor allem in der Lebensmittel- und Umweltanalytik an. Daher bemüht man sich heute mehr denn je um die Etablierung von Multi-Sensor-Arrays in diesen industriellen Bereichen.

1.2.1 Untersuchung von Lebensmitteln

Angesichts immer strengerer gesetzlicher Vorgaben und der Forderung des Verbrauchers nach qualitativ einwandfreien Lebensmitteln hat die Überwachung und Kontrolle von Rohwaren sowie die Qualitätssicherung von Endprodukten in der Lebensmittelindustrie verstärkt Bedeutung erlangt.

In der industriellen Praxis werden vor allem analytische Methoden wie die Gaschromatographie, oft gekoppelt mit Massenspektrometrie, zur Identifizierung und Quantifizierung von Lebensmittelinhaltsstoffen herangezogen. Daneben setzt man auch humansensorische Testverfahren zur geruchlichen und geschmacklichen Bewertung von Lebensmitteln ein. Beide Testverfahren besitzen gravierende Nachteile: Die humansensorische Beurteilung unterliegt einer Vielzahl von subjektiven Einflüssen physiologischer Art (Gesundheitszustand und individuelle Sensibilität der Prüfpersonen) und psychischer Art (tagesformabhängige Urteils- und Konzentrationsfähigkeit, sensorisches Gedächtnis) [Ohloff, 1990]. Analytische Methoden hingegen sind zeit- und kostenintensiv.

Überall dort, wo Proben anhand ihrer leichtflüchtigen Inhaltsstoffe charakterisiert werden können, stellen Multi-Sensor-Arrays schnelle und einfache Alternativen zu den erwähnten herkömmlichen Testverfahren dar. Tab. II.2 gibt einen Überblick über einige Anwendungsgebiete und die verwendeten Sensortechniken; ähnliche Übersichten finden sich auch in Publikationen von Pearce (1997) und Schweizer-

Berberich (1995). Ergänzend sollen hier die zahlreichen Bücher [Hurst, 1997; Hurst, 1999] sowie die steigende Zahl von Tagungen und Workshops [u. a. das jährlich an unterschiedlichen Standorten stattfindende „International Symposium of Olfaction and Electronic Noses“] auf diesem Gebiet erwähnt werden, die das große Interesse der Lebensmittelindustrie an Chemosensoren dokumentieren.

Unglücklicherweise hat gerade die Bezeichnung „künstliche Nase“ in der Vergangenheit vielfach zu Verwirrungen in der Beurteilung der Leistungsfähigkeit von Multi-Sensor-Arrays geführt: Sie erweckte bei wenig erfahrenen Anwendern irrtümlich den Anschein, die Diskriminierung von Proben erfolge aufgrund ihrer unterschiedlichen Geruchseigenschaften. Tatsächlich beruht diese Differenzierung auf Unterschieden in den Zusammensetzungen der flüchtigen Fraktionen dieser Proben und kann nur in seltenen Fällen direkt mit den unterschiedlichen sensorischen Eigenschaften der Proben korreliert werden. Da Analysenergebnisse oft als alleinige Folge der verschiedenen sensorischen Profile misinterpretiert wurden, waren viele Anwender zu Unrecht enttäuscht darüber, geruchlich völlig verschiedene, in der Zusammensetzung der flüchtigen Inhaltsstoffe sehr ähnliche Proben mit Hilfe der „künstlichen“ Nase nicht diskriminieren zu können. Erst durch die Aufklärungsarbeit von erfahrenen Anwendern und um Seriosität bemühten Herstellern von Multi-Sensor-Arrays wurden die Grundlagen dieser Meßtechnik einer breiteren Öffentlichkeit verständlich gemacht.

Tab. II.2: Anwendungsbereiche von Multi-Sensor-Arrays in der Lebensmittelanalytik

Anwendungsbereich	Sensortyp	Autor(en)
homologe Alkohole, alkoholische und nichtalkoholische Getränke	QMB	Cao et al. (1995) Cao et al. (1996) Shurmer et al. (1990)
alkoholische Getränke	QMB	Ema et al. (1989) Aishima (1991a)
verschiedene Biersorten	MOS	Gardner (1991) Pearce et al. (1993)
flüchtige Aromastoffe unterschiedlicher Möhrensorten	QMB	Broda et al. (1998)
Alterung von Kabeljau und Kalbfleisch, Essigsäuregehalt in Tomatenmark	QMB	Di Natale et al. (1997)
Ranzigkeit von Butter	MOS	Hofmann et al. (1997)
Ranzigkeit von Pflanzenöl, Sortendifferenzierung von Weißwein	MOS	Shiers und Farnell (1995)
Klebstoffart und -anteil in beleimten Spänen	MOS	Zürcher et al., 1997
Unterscheidung von Kaffeesorten, Wurst verschiedener Hersteller	MOS	Tan et al. (1995)
Unterscheidung von Kaffeesorten (geröstete Bohnen)	MOS	Gardner et al. (1992) Springett (1990)
Unterscheidung von Kaffeesorten (geröstete Bohnen), Instantkaffee	MOS	Aishima (1991b)
Rotwein gleicher geographischer Herkunft, angebaut auf unterschiedlichen Weinbergen	MOS	Di Natale et al. (1996)
Röstkaffee unterschiedlicher Herkunftsländer	MOS	Lucas et al. (1996)
Cheddar-Käse unterschiedlicher Handelsklassen	MOS	Wijesundera und Walsh (1998)
Qualität von Hackfleisch	MOS	Winqvist et al. (1993)
Aromaextrakte, Verderb von Orangensaft und Milch	MOS	Hoffheins und Lauf (1990)
Pappe unterschiedlicher Hersteller	MOSFET, MOS	Holmberg et al. (1995)
Trichloranisol in Kork	leitende Polymere	Hodgins (1995)

1.2.2 Anwendungen in der Umweltanalytik

Wenngleich im Bereich der Umweltanalytik die Entwicklung hochempfindlicher Einzelsensoren zur selektiven Detektion bestimmter Schadstoffe im Vordergrund steht, wird in jüngerer Zeit auch der Einsatz von Multi-Sensor-Arrays zur Luftanalyse erprobt. Tabelle II.3 gewährt einen Einblick in Anwendungsgebiete zur Bestimmung von gasförmigen Schadstoffen.

Tab. II.3: Anwendungsbereiche von Multi-Sensor-Arrays in der Umweltanalytik

Anwendungsbereich	Sensortyp	Autor(en)
Lösungsmittel	QMB SAW	Chang et al. (1991) Ballantine und Wohltjen (1989)
Diesel- und Lösungsmitteldämpfe	QMB, SAW	Dickert et al. (1997)
Lösungsmittel	QMB	Carey et al. (1987)
SO ₂ , NH ₃ , H ₂ S, HCl, Phosphororganische Verbindungen, Pestizide	QMB	Hlavay und Guilbault (1977)
NH ₃ , H ₂ S, HCl, Phosphororganische Pestizide, Toluol, CO	QMB	Guilbault (1982)
H ₂ , NH ₃ , Ethylen, Ethanol	MOSFET	Sundgren et al. (1990)
CH ₄ /CO-Gemische	MOS	Horner und Albertshofer (1988) Hierold und Müller (1989)
organische Verbindungen unterschiedlicher Substanzklassen	MOS	Oishi (1988)
Kraftstoffe für Motoren und Turbinen	MOS	Lauf und Hoffheins (1991)
H ₂ , NH ₃ , Methanol, Aceton, Benzol, Toluol	MOS	Müller und Horner (1986)
homologe Alkohole	leitende Polymere	Hatfield et al. (1994)
Geruchsbelästigung in der Landwirtschaft	leitende Polymere	Persaud et al. (1996)

2. Signalverarbeitung und Datenauswertung

2.1 Signalverarbeitung

Die von den einzelnen Sensoren eines Multi-Sensor-Arrays gelieferten Meßdaten sind zeitabhängige, elektronische Signale, die infolge der Wechselwirkung der Sensoren mit Inhaltsstoffen der Probe entstehen. Sie werden einer Datenvorverarbeitung unterzogen, um anschließend mit Verfahren der multivariaten Statistik ausgewertet werden zu können.

Signale von Chemosensoren werden fast ausschließlich mittels Transformation vorverarbeitet. Welcher Transformations-Algorithmus dabei verwendet wird, hängt von Aufbau und Typ des Multi-Sensor-Arrays, der Meßumgebung sowie der statistischen Methode der Datenauswertung ab [Gardner und Bartlett, 1994]. Bei der Vorverarbeitung von Meßdaten aus mehrdimensionalen Arrays mit linearer Ansprechcharakteristik (QMB) wird i. a. eine Signalnormierung nach $x_{ij}' = x_{ij} / \sum_i x_{ij}$ durchgeführt

2.2 Datenauswertung mit multivariaten Verfahren

Eine Messung, die mit einem Array aus j Einzelsensoren durchgeführt wurde, läßt sich als j -dimensionaler Vektor $x = (x_1 \dots x_j)$ darstellen: i Messungen der gleichen Probe können zu einer Klasse zusammengefasst und als Matrix X angeordnet werden. Die Matrix X enthält daher j Spalten und i Zeilen:

$$X = \begin{pmatrix} x_{11} & \dots & x_{1j} \\ x_{21} & \dots & x_{2j} \\ \cdot & & \cdot \\ \cdot & & \cdot \\ x_{i1} & \dots & x_{ij} \end{pmatrix} \quad (\text{II.1})$$

Zur Erkennung von Mustern in Daten sowie zur Zuordnung von Objekten zu diesen Mustern verwendet man Methoden der multivariaten Datenanalyse. Man unter-

scheidet dabei zwischen Methoden der überwachten Klassifikation und Methoden der unüberwachten Klassifikation (Tab. II.4 und Tab. II.5).

Methoden der unüberwachten Klassifikation werden dazu benutzt, Gruppierungen von Daten herauszufinden. Methoden der überwachten Klassifikation dienen dazu, die Zugehörigkeit von unbekanntem Objekten zu bereits bekannten Datengruppen (Klassen, Clustern) zu untersuchen.

Multivariate Techniken sind in der Literatur ausführlich beschrieben [u. a. Flury und Riedwyl, 1983; Henrion und Henrion, 1994; Otto, 1997]. Sie werden in vielen naturwissenschaftlichen Disziplinen, hauptsächlich jedoch in der Chemie zur Planung und Auswahl optimaler Meßverfahren sowie zur Gewinnung maximal relevanter Information bei der Analyse von Meßdaten verwendet [Sharaf, 1986; Massart, 1988].

Tab. II.4: Methoden der überwachten Klassifikation

Parametrische Methoden	<ul style="list-style-type: none"> • Lineare Diskriminanzanalyse (LDA)
Nichtparametrische Methoden	<ul style="list-style-type: none"> • Methode der k-nächsten Nachbarn • SIMCA-Methode • Neuronale Netzwerke (Kohonen, Backpropagation) • Fuzzy-Methodik der unscharfen Mustererkennung

Tab. II.5: Methoden der unüberwachten Klassifikation

Faktorielle Methoden	<ul style="list-style-type: none"> • Hauptkomponentenanalyse (PCA) • Faktorenanalyse (FA) • Singulärwertzerlegung (SVD) • Eigenvektorprojektion • Ranganalyse • Karhunen-Loewe-Expansion • Maximum-Likelihood Faktorenanalyse • Hauptfaktorenanalyse
Clusteranalysen	<ul style="list-style-type: none"> • hierarchische Clusteranalyse • nicht-hierarchische Clusteranalyse • Fuzzy-Methodik der unscharfen Clusterung
Graphische Verfahren	<ul style="list-style-type: none"> • Chernoff-Gesichter • Darstellung als „Sterne“ und „Sonnenstrahlen“

Signalverarbeitungsmethoden und Klassifikationsstrategien, die in Multi-Sensor-Arrays verwendet werden, besitzen große Ähnlichkeit mit den Prinzipien der biologischen Geruchserkennung. Seit Persaud und Dodd (1982) diese Analogie erstmals aufzeigten, werden Multi-Sensor-Arrays daher oftmals als „elektronische Nasen“ bzw. „künstliche Nasen“ bezeichnet.

Aus der Vielzahl multivariater Verfahren sollen die gebräuchlichsten im folgenden vorgestellt werden.

Im Bereich der Chemie und Physik werden mit der Anwendung der multivariaten Datenanalyse in den meisten Fällen eine der drei nachstehenden Zielsetzungen verfolgt.

- 1) Ermittlung der Gruppierung von Objekten
- 2) Zuordnung unbekannter Objekte zu bestehenden Objektgruppen
- 3) Vorhersage bestimmter Objekteigenschaften aufgrund vorliegender Meßdaten

Sowohl bei der Ermittlung von Objektgruppierungen als auch bei der Zuordnung unbekannter Objekte zu fixierten Objektgruppen spielt der Begriff der *Klassifikation* eine zentrale Rolle – allerdings mit jeweils unterschiedlicher Bedeutung. Im ersten Fall versteht man unter Klassifikation die Ermittlung von Objektgruppierungen. Im zweiten Fall erfolgt mit der Klassifikation die Zuordnung eines Meßdatensatzes zu bereits vorgegebenen Gruppen. Im dritten Fall, bei der Vorhersage bestimmter Objekteigenschaften aufgrund vorliegender Meßdaten, spielt die *Klassifikation* keine Rolle.

Die mathematischen Verfahren, derer man sich zur Realisierung der drei oben genannten Zielvorstellungen bedient, werden im folgenden näher betrachtet.

2.2.1 Hauptkomponentenanalyse

Die Hauptkomponentenanalyse bzw. Hauptachsentransformation ist das gebräuchlichste Verfahren zur Ermittlung von Objektgruppierungen. Sie ermöglicht zum einen die bequeme graphische Veranschaulichung der wesentlichen Struktur eines Datensatzes. Zum anderen bilden Hauptkomponenten neue statistische Variablen mit günstigen Eigenschaften, die sich auch in einer Reihe anderer Problemstellungen (Regression, Klassifikation, Clusteranalyse) verwenden lassen. Bei der Auswertung der Meßdaten von Multi-Sensor-Arrays erweist sich dieses Verfahren als besonders

zweckmäßig, weil damit die Reduktion der hochdimensionalen Primärdaten auf einen leicht interpretierbaren, niederdimensionalen Datensatz erfolgt. So kann z. B. die Unterscheidbarkeit mehrerer Proben(klassen) festgehalten werden, da die Meßdaten von Serienproben derselben Probenklasse zu unterscheidbaren Gruppen (Clustern) zusammengefaßt werden können.

In praxi gibt es verschiedene Ansätze zur Durchführung einer Hauptachsentransformation. Stets wird jedoch der zur Verfügung stehende Datensatz X von n Objekten (Meßwerten) und $p < n$ Variablen (Sensoren) zunächst zentriert.

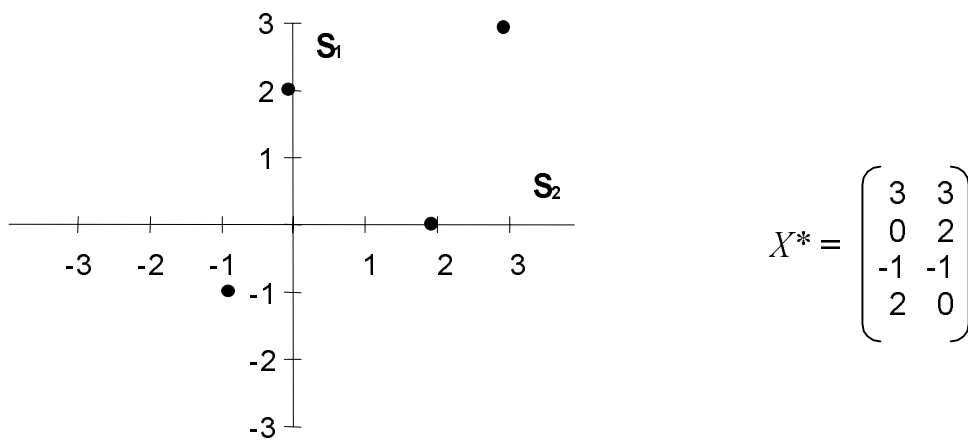


Abb. II.1 Zweidimensionaler Objektdatensatz, nicht zentriert

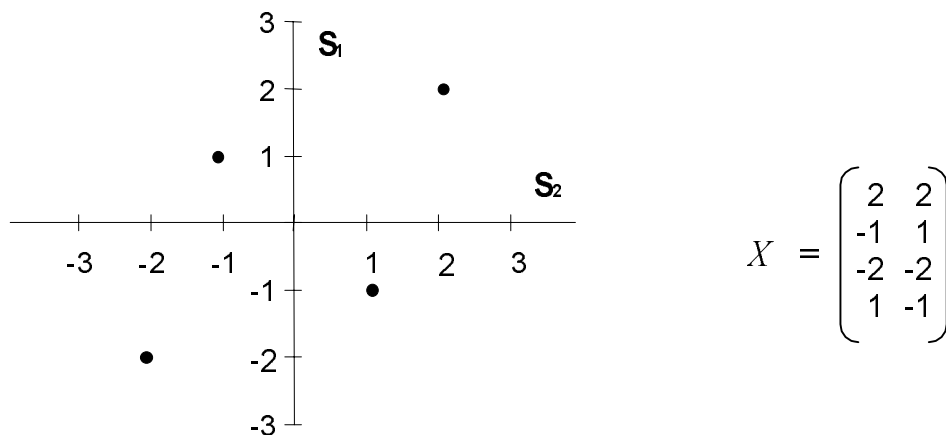


Abb. II.2 Zweidimensionaler Objektdatensatz, zentriert

In einem eher statistisch orientierten Ansatz wird dann die empirische Kovarianzmatrix C_K des zentrierten Datensatzes nach

$$C_K = (n-1)^{-1} \cdot X^T \cdot X \quad (II.2)$$

berechnet. Im vorliegenden Beispiel ergibt sich die Kovarianzmatrix zu

$$C_K = \frac{1}{4-1} \cdot \begin{pmatrix} 2 & -1 & -2 & 1 \\ 2 & 1 & -2 & -1 \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} 2 & 2 \\ -1 & 1 \\ -2 & -2 \\ 1 & -1 \end{pmatrix}$$

$$C_K = \frac{1}{3} \cdot \begin{pmatrix} 10 & 6 \\ 6 & 10 \end{pmatrix}$$

Abschließend werden die Eigenvektoren der Kovarianzmatrix C_K berechnet. Die Eigenvektoren sind identisch mit den Hauptachsen der Ausgangsdatenmatrix X . Im vorliegenden Beispiel erhält man die beiden Eigenvektoren

$$t_1 = \begin{pmatrix} 1 \\ 1 \end{pmatrix} \text{ und } t_2 = \begin{pmatrix} 1 \\ -1 \end{pmatrix}$$

Durch Rangreduktion der Ausgangsdatenmatrix X erhält man im vorliegenden Beispiel einen eindimensionalen Datensatz X' .

$$X' = \begin{pmatrix} 2 & 2 \\ -1 & 1 \\ -2 & -2 \\ 1 & -1 \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} 1 \\ 1 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 4 \\ 0 \\ -4 \\ 0 \end{pmatrix}$$

Die Objekte des Ausgangsdatensatzes lassen sich nun – subjektiv – in Klassen einteilen. Im vorliegenden Beispiel liegt die Einteilung in drei Klassen nahe.

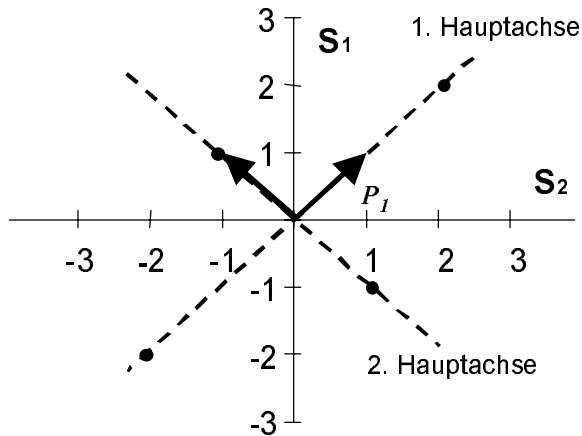


Abb. II.3 1. und 2. Hauptachse des zweidimensionalen Objektdatensatzes (n=4)

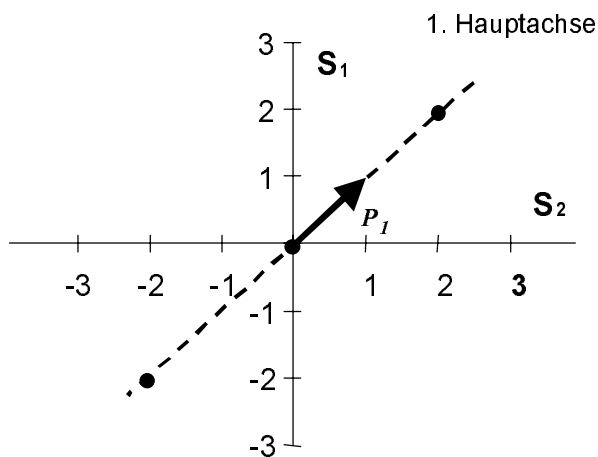


Abb. II.4 Rangreduktion von X

In einem eher geometrisch orientierter Ansatz wird die Ausgangsmatrix X nach ihrer Zentrierung als Summe von Matrizen mit Rang 1 dargestellt.

$$X = T \cdot P^T = t_1 \cdot p_1 + t_2 \cdot p_2 + \dots + t_m \cdot p_m \quad (II.3)$$

Die Vektoren t_i werden als „Scores“, die Vektoren p_i als „Loadings“ bezeichnet. Die Spaltenvektoren $p_{1..m}$ sind wiederum die Eigenvektoren der Matrix $X^T X$. Die Rangreduktion von X bzw. die Reduktion der Matrix X auf signifikante Dimensionen erfolgt dann durch Weglassen der letzten Glieder obenstehender Gleichung. Dies bedeutet in praxi, daß die ursprüngliche Datenmatrix X durch zwei kleinere Matrizen t_1 und p_1

angenähert wird. Im vorliegenden Beispiel einer (2;4)-Datenmatrix X ist dies noch bequem per Hand zu bewältigen, im Falle von höherdimensionalen Ausgangssätzen bedient man sich spezieller iterativer Algorithmen wie z.B. dem NIPALS-Algorithmus (Otto, 1997) zur Bestimmung von t_1 und p_1 .

Die Hauptkomponenten stellen neue unkorrelierte Variablen in der Form optimaler Linearkombinationen dar. Sie können mathematisch als die gewichtete Summe der ursprünglichen i gemessenen Variablen (Sensoren) aufgefaßt werden, graphisch sind sie als die Projektionen der ursprünglichen Datenmatrix X auf die Faktorenwerte t zu interpretieren. Jede hinzukommende Hauptkomponente beschreibt das Maximum an Varianz, das durch die vorangegangenen Komponenten nicht erfaßt wurde. Die Elemente z. B. der ersten Hauptkomponente ergeben sich aus:

$$\begin{aligned} t_{11} &= x_{11} l_{11} + x_{12} l_{12} + \dots + x_{1j} l_{j1} \\ t_{21} &= x_{21} l_{11} + x_{22} l_{12} + \dots + x_{2j} l_{j1} \\ &: \\ t_{i1} &= x_{i1} l_{11} + x_{i2} l_{12} + \dots + x_{ij} l_{j1} \end{aligned} \tag{II.4}$$

Zur graphischen Interpretation der Ergebnisse einer PCA verwendet man sog. Faktorenwerte-Darstellungen. Die Achsen des i. a. zweidimensionalen Diagramms werden von den Hauptkomponenten aufgespannt, die Koordinaten der Objekte (Messungen) errechnen sich durch Wichtung mit den Komponenten der Eigenvektoren.

Für die Entscheidung darüber, wieviele Hauptkomponenten notwendig sind, um die ursprüngliche Datenstruktur adäquat zu reproduzieren, stehen zahlreiche statistische und heuristische Kriterien zur Verfügung. Zu den statistisch begründeten Vorgehensweisen zählen der Sphärentest nach Bartlett [vgl. Marinell, 1979] und die Kreuzvalidierung [Wold, 1978]. Die am häufigsten verwendeten heuristisch begründeten Verfahren sind der Scree-Test nach Cattell (1966), das Eigenwert-Eins-Kriterium nach Kaiser (1959) sowie die Verwendung des Anteils der erklärten (kumulativen) Varianz [vgl. Otto, 1997].

2.2.2 Diskriminanzanalyse

Eine weitere wichtige Frage in der naturwissenschaftlichen Praxis ist es, neue Objekte unbekannter Herkunft einer von q möglichen – von vornherein fixierten – Gruppen eines Ausgangsdatensatzes zuzordnen. Um Klassifikationsregeln aufstellen zu können, muß die Verteilung und Lage der Muster im Merkmalsraum untersucht werden. Dieses problemspezifische Verfahren wird als Diskriminanzanalyse¹ bezeichnet.

Betrachtet man die Muster als Punkte im mehrdimensionalen Raum, bilden sich für jede Klasse ω_i Punktwolken um den Schwerpunkt μ_i . Definiert man die Muster als Vektoren im mehrdimensionalen Raum, wird eine Klasse ω_i durch eine Gruppe von Ortsvektoren festgelegt. Die Zuordnung unbekannter Mustervektoren p erfolgt anhand ihres Musters in denselben Variablen wie im gegebenen Datensatz. Durch die Wahl eines geeigneten Klassifikationskriteriums wird gewährleistet, daß die Zuordnung des unbekanntes Objekts mit möglichst geringer Wahrscheinlichkeit der Fehlklassifikation vorgenommen wird.

Der Klassifikation kann, muß aber nicht zwingend, eine Dimensionsreduzierung (z.B. mittels Hauptachsentransformation) vorausgehen. Im Gegensatz zur klassischen Hauptachsentransformation ist das Ziel der hierbei vorgenommenen linearen Transformation nicht die Maximierung der Varianz innerhalb des Gesamtdatensatzes. Es ist vielmehr die Maximierung der Varianz zwischen den Gruppen bei gleichzeitiger Minimierung der Varianz innerhalb dieser Gruppen. In praxi bedeutet dies, daß die Vektoren einer Klasse im resultierenden Unterraum dicht beisammen liegen, während die Abstände der Mittelpunktsvektoren groß bleiben.

2.2.2.1 Hauptachsentransformation für die Stoffklassifikation

Ein Transformationsverfahren zur Dimensionsreduzierung, das sich in Bezug auf die Erhaltung der klassentrennenden Information als äußerst günstig erweist, ist die *generalisierte Karhunen-Loève-Transformation* (Horner, 1990; Niebling, 1996). Da sie in der vorliegenden Arbeit zur Datenauswertung herangezogen wird, wird sie im folgenden in ihren Grundzügen vorgestellt.

¹ Ganz allgemein bezeichnet man statistische Entscheidungsverfahren, die eine Beobachtung p einer bestimmten Gruppe gleichartiger Beobachtungen – einer Population ω_i – zuordnen, als Diskriminanzanalyse

Die *Karhunen-Loève-Transformation* ist eine zweistufige lineare Transformation, an deren Beginn eine Hauptachsentransformation der Klassenmittelpunkte der Merkmalsvektoren steht. Man geht davon aus, daß der Abstand der Klassen durch den Abstand ihrer Klassenmittelpunkte ausreichend beschrieben werden kann. Die Distanz der Klassenmittelpunkte ist jedoch nur unter Berücksichtigung der Klassenstreuungen ein aussagekräftiges Maß für die Trennbarkeit der Klassen. Im allgemeinen liegt eine optimale Klasseneinteilung dann vor, wenn die Streuungen innerhalb einer Klasse klein und die Abstände zwischen den Klassen groß sind. Es muß jedoch außerdem gewährleistet sein, daß alle Richtungen im Merkmalsraum bezüglich der Klassenstreuungen gleichwertig sind. Zunächst wird deshalb eine mittlere Kovarianzmatrix $\overline{C_K}$, die sog. Interklassenmatrix, nach

$$\overline{C_K} = \frac{1}{g} \cdot \sum_{i=1}^g \overline{C_K} \quad (II.5)$$

ermittelt. Sie umfaßt die Klassenstreuungen um den Mittelwert. Sind die Streuungen der Klassen in bestimmten Richtungen des Merkmalsraums ausgeprägter als in anderen, muß der Merkmalsraum homogenisiert werden. Man erreicht dies durch Überführung der Interklassenmatrix in die Einheitsmatrix mit Hilfe einer linearen Transformation B nach

$$B^T \overline{C_K} B = I \quad (II.6)$$

Die Matrix der ursprünglichen Klassenmittelpunkte μ wird mit Hilfe der Abbildungsvorschrift B in die Matrix μ^* überführt.

$$\mu^* = \mu \cdot B \quad \text{mit} \quad \mu = \begin{pmatrix} \mu_A^T \\ \mu_B^T \\ \vdots \end{pmatrix} \quad (II.7)$$

Erst dann wird die eigentliche Hauptachsentransformation mit der Matrix der modifizierten Mittelwerte μ^* durchgeführt. Die dabei ermittelten Hauptachsen werden in der Matrix V zusammengefasst. Man hat nun eine Projektionsebene gefunden, auf der die Klassenmittelpunkte möglichst großen Abstand haben, ohne dabei die Streuung innerhalb der Klassen zu verschlechtern. Ähnlich wie bei der unter 2.2.2.1 beschriebenen einstufigen Hauptachsentransformation des Ausgangsdatensatzes lassen sich

aus dem Ergebnis der hier vorgestellten zweistufigen Hauptachsentransformation Aussagen über die Bedeutung einzelner Sensoren für den Klassifikationsprozeß machen. Ein einzelner Sensor ist umso bedeutender, je größer sein „Score“-Koeffizient ist.

Abschließend werden alle Merkmalsvektoren p_{alt}^T des Ausgangsdatensatzes transformiert nach

$$p_{alt}^T = p_{alt}^T \cdot B \cdot V \quad (II.8)$$

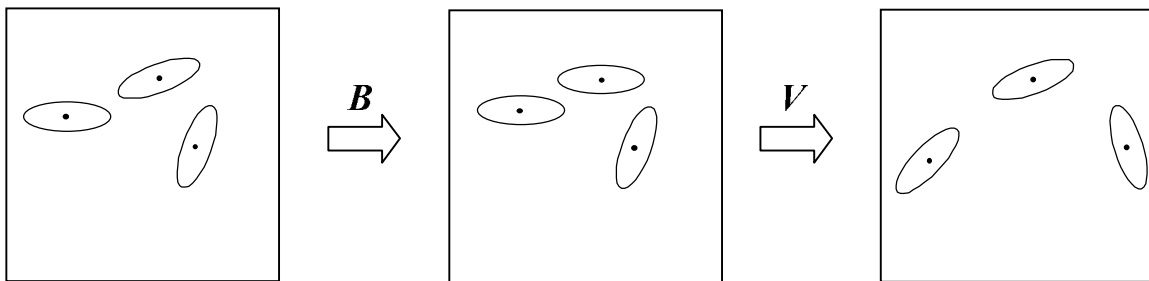


Abb. II.5 Transformation der Merkmalsvektoren bei der Stoffklassifikation

2.2.2.2 Klassifikatoren und Klassifikationskriterien

Wie bereits erwähnt, stellen sich Klassen von Objekten im mehrdimensionalen Raum als Punktwolken um den Schwerpunkt der jeweiligen Klasse dar. Aufgrund dieser Clusterung kann ein unbekanntes Muster – ein einzelner Punkt im mehrdimensionalen Raum – durch eine einfache Abstandsmessung klassifiziert werden. Das unbekannte Muster wird dann derjenigen Klasse zugeordnet, welche den geringsten Abstand zum unbekanntem Muster aufweist. Mit der Wahl eines bestimmten Distanzmaßes wird der Begriff „Abstand“ konkretisiert und quantifiziert.

Vom geometrischen Standpunkt aus betrachtet werden somit die Grenzen im Merkmalsraum festgelegt, mit denen die Klassifikation eines unbekanntem Musters vorgenommen werden kann.

Euklidischer Abstand

Ein gebräuchliches Distanzmaß ist der *Euklidische Abstand* d_E . Er berechnet sich aus dem Quadrat des Abstands zwischen dem Mustervektors p und dem Mittelpunktsvektor μ_i der Klasse ω_i . Er ist damit ein rein geometrisches Abstandsmaß. Ein unbekanntes Muster p wird derjenigen Klasse zugeordnet, deren Mittelpunkt von allen g Klassen den geringsten Abstand zu p besitzt.

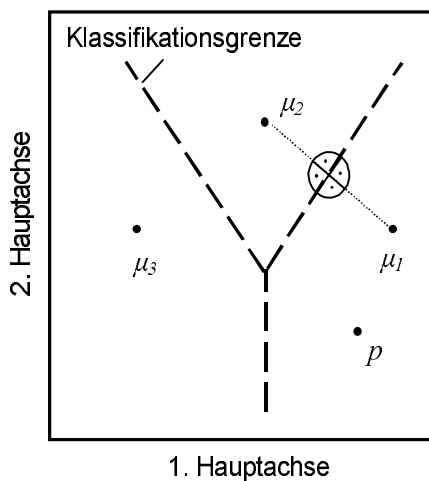


Abb. II.6 Prinzip der Klassenzuordnung mittels des Euklidischen Abstands

Ein Nachteil des Euklidischen Klassifikators besteht darin, daß er von den verschiedenen Klassen gleiche Streuungen erwartet.

Gewichteter Euklidischer Abstand (Mahalanobisdistanz)

In der Praxis liegt oft eine ungleiche Streuung der Merkmale vor. In diesem Fall verwendet man Distanzmaße wie den gewichteten Euklidischen Abstand d_M , da hierbei die Streuungen der einzelnen Klassen berücksichtigt werden. Zur Bestimmung der Mahalanobisdistanz eines Musters p zum Mittelpunkt einer Klasse ω_i benötigt man die empirische Kovarianz C_K der n_K Merkmalsvektoren dieser Klasse.

$$\overline{C}_K = \frac{1}{n_K - 1} \cdot \sum_{i=1}^{n_K} (p_{K_i} - \mu_K) \cdot (p_{K_i} - \mu_K)^T \quad (\text{II.9})$$

Der Mahalanobisabstand [Mahalanobis, 1936] ergibt sich dann unter Verwendung der invertierten Kovarianzmatrix zu

$$d_M(p_X, \mu_K) = \sqrt{(p_X - \mu_K)^T C_K^{-1} (p_X - \mu_K)} \quad (II.10)$$

Orte gleicher Mahalanobisdistanz zum jeweiligen Klassenmittelpunkt werden im Merkmalsraum in Form von Ellipsen dargestellt. Der Abstand wird dabei so gewählt, daß die Ellipsen 99 % aller Muster einer Klasse einschliessen. Abbildung II.7 zeigt die Aufteilung des Merkmalsraums mit Hilfe des Mahalanobisklassifikators.

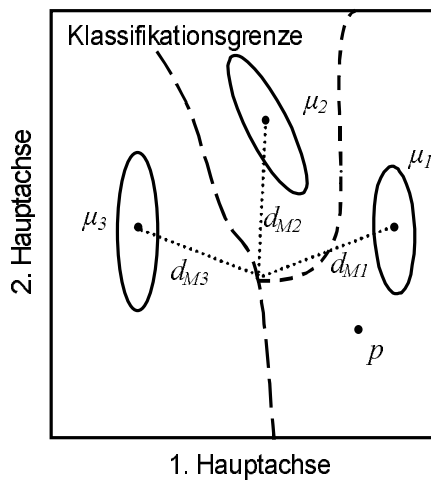


Abb. II.7 Prinzip der Klassenzuordnung mittels des Mahalanobisabstandes

2.2.3 Stichprobenumfang und Dimensionalität in Klassifikationsverfahren

Im praktischen Umgang mit Chemosensor-Arrays und der Auswertung mehrdimensionaler Signalmuster sollten stets auch die beiden folgenden Aspekte der Untersuchungen näher betrachtet werden: Eignet sich das verwendete Chemosensor-Array hinsichtlich Zahl und Art der verwendeten Einzelsensoren zur Lösung des Klassifikationsproblems? Ist der Kalibrationsdatensatz hinreichend groß, um eine verlässliche Klassifikation zu gewährleisten?

Zur Beantwortung dieser Fragen wird die Tatsache genutzt, daß in der Diskrimanzanalyse zur Klassifikation von Mustern lineare Entscheidungsfunktionen der Form

$$d(p) = \omega_0 + \omega_1 \cdot p_1 + \omega_2 \cdot p_2 + \dots + \omega_r \cdot p_r \quad (II.11)$$

verwendet werden: Sowohl bei den Klassifikatoren selbst als auch bei den Abbildungsvorschriften der Hauptachsentransformationen handelt es sich um lineare Abbildungsvorschriften, die ebendieser Form entsprechen.

Die Entscheidungsregeln derartiger Funktionen lassen sich als lineare Ungleichungen darstellen (Horner, 1990). Die Entscheidungsgrenze zwischen zwei Klassen liegt dann bei $d_1=d_2$.

Sollen n r -dimensionale Muster in zwei Klassen aufgeteilt werden, ergeben sich S mögliche Klassenaufteilungen. Die Berechnung von S (Horner, 1990; Meyer-Brötz und Schürmann, 1970) erfolgt nach

$$S = \begin{cases} 2 \cdot \sum_{i=0}^r \binom{n-1}{i} & \text{für } n \geq r + 1 \\ 2^n & \text{für } n \leq r + 1 \end{cases} \quad (\text{II.12})$$

Die Wahrscheinlichkeit p , mit einem linearen Klassifikator eine willkürliche Klasseneinteilung vorzunehmen, ergibt sich zu

$$p_{n,r} = \frac{\text{Zahl der linear trennbaren Klassen}}{\text{Zahl der möglichen Klassenaufteilungen}} = \frac{S}{2^n} \quad (\text{II.13})$$

bzw.

$$S = \begin{cases} 2^{1-n} \cdot \sum_{i=0}^r \binom{n-1}{i} & \text{für } n \geq r + 1 \\ 1 & \text{für } n \leq r + 1 \end{cases} \quad (\text{II.14})$$

In Abbildung II.8 wird $p_{n,r}$ in Abhängigkeit von der Musteranzahl n und der Merkmalsdimension r dargestellt.

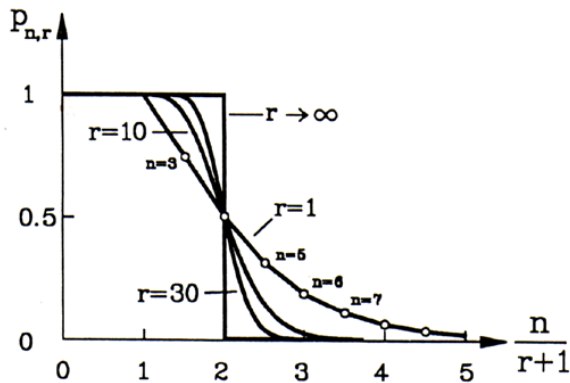


Abb. II.8 Wahrscheinlichkeit $p_{n,r}$, n r -dimensionale Muster mit einem linearen Klassifikator bei willkürlicher Klassenzuordnung in zwei Klassen einteilen zu können [Horner, 1990].

Die beiden eingangs gestellten Fragen lassen sich damit wie folgt beantworten:

Je größer die Anzahl der Merkmale, desto mehr beliebig verteilte Muster können im Merkmalsraum in eine willkürliche Klasseneinteilung gezwungen werden. In praxi bedeutet dies, daß für einen zu kleinen Kalibrationsdatensatz die Hauptachsentransformation stets einen Merkmalsraum liefert, in dem die als unterschiedlich definierten Klassen getrennt vorliegen – unabhängig davon, ob sich deren Signalmuster tatsächlich signifikant unterscheiden.

Dies bedeutet weiterhin, daß mit steigender Anzahl von Einzelsensoren im Array die Wahrscheinlichkeit einer Fehlklassifikation zunimmt, falls die Dimensionalität des Kalibrationsdatensatzes nicht hinreichend groß ist. Die Verwendung hochdimensionaler Sensorarrays kann sich daher unter Umständen negativ auf die Zuverlässigkeit der Klassifizierung auswirken, da mit der Erhöhung der Merkmalsdimension nicht zwangsläufig auch die Anzahl der trennspezifischen Merkmale eines Signalmusters zunimmt. In der industriellen Praxis verzichtet man daher auf die Verwendung hochdimensionaler Sensorarrays, da die Erstellung der großer Kalibrationsdatensätze zeitaufwendig und kostspielig ist.

2.2.4 PLS-Verfahren

Während die Klassifikationsverfahren in der Absicht angewendet werden, unbekannte Objekte bekannten Klassen zuzuordnen, wird mit der Anwendung von Verfahren

der multivariaten linearen Regression¹ ein völlig anderes Ziel verfolgt. Regressionsmethoden wie das PLS (Partial Least Squares)-Verfahren dienen dazu, schwer meßbare Variablen oder „abstrakte“ Objekteigenschaften aus leicht meßbaren Ersatzvariablen vorherzusagen. Mit der Regressionsrechnung läßt sich feststellen, ob ein linearer Zusammenhang zwischen einer bekannten nicht meßbaren Objekteigenschaft und bestimmten meßbaren Größen tatsächlich existiert. Das Hauptanwendungsgebiet der Regression in der analytischen Chemie ist die Kalibrierproblematik. Hier ist insbesondere die Konzentrationsbestimmung eines Analyten bzw. die Vorhersage seiner Konzentration auf Basis geeigneter Meßsignale von Interesse.

Während die Klasifikationsverfahren auf Datensätze angewendet werden, die bezüglich der Objektmenge strukturiert sind, geht man bei der multivariaten Regression von zwei unabhängigen Gruppen innerhalb der Variablenmenge aus. Die erste Gruppe besteht aus den sog. Regressoren x_1, x_2, \dots, x_m , die zweite Gruppe aus den sog. Regressanden y_1, y_2, \dots, y_g (Niebling, 1996; Henrion und Henrion, 1995; Hartung, 1986).

$$\begin{aligned} y_1 &= a_{11}x_1 + a_{21}x_2 + \dots + a_{m1}x_m \\ y_2 &= a_{12}x_1 + a_{22}x_2 + \dots + a_{m2}x_m \\ &\vdots \\ y_g &= a_{1g}x_1 + a_{2g}x_2 + \dots + a_{mg}x_m \end{aligned} \tag{II.15}$$

In der Chemosensorik stellen die Sensorsignale die Regressoren (x-Variablen) dar, die Konzentrationswerte werden durch die Regressanden (y-Variablen) beschrieben. Unter Verwendung des Ausgangsdatensatzes werden die Koeffizienten a_{ij} so berechnet, daß die Summe zwischen den Schätz- und Meßwerten der y-Variablen minimal wird (Niebling, 1996).

Im Rahmen der linearen Regression ist das Gleichungssystem $Y = X \cdot A$ mit der unbekannt Matrix A zu lösen. Zuvor wird mit den beiden Datenblöcken (X, Y) eine (verknüpfte) Hauptachsentransformation mit Hilfe des PLS-Algorithmus (Niebling, 1996) durchgeführt. Diese Rangreduktion der Regressoren- bzw. Regressanden-

¹ Neben Verfahren der linearen Regression existieren auch multivariate Verfahren der nichtlinearen Regression wie z.B. Neuronale Netze. Zum Studium dieser Techniken sei auf die Literatur (Zell, 1996) verwiesen.

Matrix mittels Hauptachsentransformation ist notwendig: Nur falls die Anzahl der Stichproben gleich ist mit der Anzahl der Regressoren, existiert eine eindeutige Lösung für A , ansonsten ist das Gleichungssystem $Y = X \cdot A$ überbestimmt. In praxi hat dies eine wichtige Konsequenz: Anders als in der Diskriminanzanalyse muß in der Regressionsanalyse die Zahl der Messungen die Zahl der Sensoren nicht notwendigerweise übersteigen, um die numerische Stabilität der Analyse zu gewährleisten. Es ist im Gegenteil sogar von Vorteil, wenn die Zahl der Messungen und die Zahl der Sensoren identisch sind.

Als Ergebnis der linearen Regression mit dem PLS-Algorithmus erhält man schließlich eine Abbildungsvorschrift A in Form einer $(m;g)$ -Matrix.

III Konzeptionelle Aspekte und theoretische Grundlagen des MS-Sensors

1. Konzept des MS-Sensors

1.1 Aufbau und Meßprinzip

Das Sensorsystem auf massenspektrometrischer Basis besteht aus denselben funktionalen Einheiten wie herkömmliche Sensorsysteme: einem System zur Probenzuführung, einer Meßzelle mit einem Sensorarray aus n einzelnen Sensorelementen und einem System zur Datenverarbeitung (Abb. III.1). Einzig die Meßzelle selbst ist durch ein Massenspektrometer ersetzt, so daß der Array aus n Einzelsensoren in einer Auswahl aus n Fragmentionen Entsprechung findet. Daher werden im weiteren Verlauf dieser Arbeit die Begriffe *Sensor* und *Fragmention* synonym gebraucht.

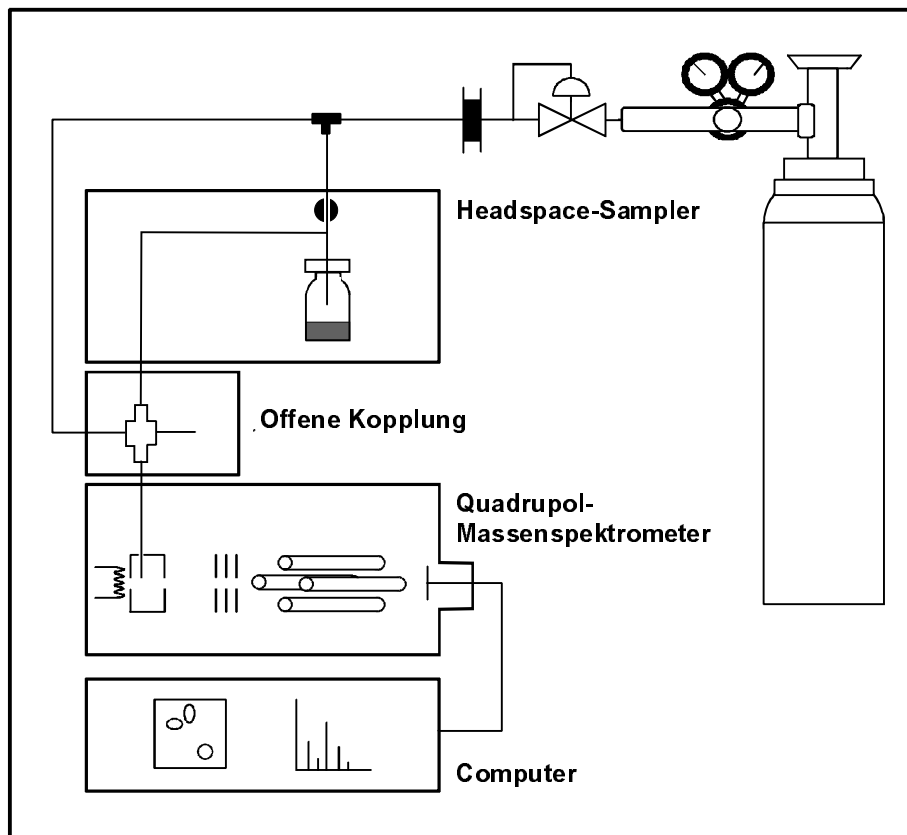


Abb. III.1 Schemazeichnung des MS-Sensors

Wird eine Mischung flüchtiger Stoffe ohne Trennung ins Massenspektrometer überführt, erfolgt die Aufzeichnung der Intensitäten dieser n Fragmentionen. Die gemessenen Intensitäten bilden das charakteristische Signalmuster des Fragmentionen-Arrays, welches mit Methoden der mehrdimensionalen Signalverarbeitung ausgewertet werden kann. Die Analogien zwischen MS-Sensor und herkömmlichen Multi-Sensor-Arrays sind einander am Beispiel des Multi-Sensor-Arrays auf Schwingquarz-Basis in Tabelle III.1 gegenübergestellt.

Tab. III.1: Gegenüberstellung von Multi-Sensor-Arrays auf Schwingquarzbasis und MS-Basis

	Multi-Sensor-Array auf Schwingquarz-Basis	Multi-Sensor-Array auf MS-Basis
Einzel-sensor	einzelnes Sensorelement mit gassensitiver Beschichtung	Fragmention
Sensorsignal	Frequenzerniedrigung	Intensität des Fragmentions
Array aus n Einzel-sensoren	n Sensorelemente mit unterschiedlichen Beschichtungen	n unterschiedliche Fragmentionen
Auswertung der Meßdaten	Datenverarbeitung mit Methoden der Mustererkennung	Datenverarbeitung mit Methoden der Mustererkennung

1.2 Strömungsverhältnisse

Von entscheidender Bedeutung für die Qualität einer Meßapparatur ist die Wahl optimaler und aufeinander abgestimmter Geräteparameter. Um im vorliegenden System sowohl eine reproduzierbare Direktinjektion im Sensor-Betrieb als auch eine funktionsfähige Trennung mit akzeptabler Analysenzeit und Trennwirksamkeit im Headspace-GC-MS-Betrieb zu gewährleisten, müssen insbesondere diejenigen Parameter, die Einfluß auf die Strömung des Trägergases durch die Apparatur ausüben, sorgfältig gewählt werden. Neben dem Trägergasvordruck sind dies die Dimensionen der verwendeten Kapillaren und die Arbeitstemperaturen der unterschiedlichen Bauteile. Im folgenden wird daher auf die apparativen Rahmenbedingungen und die daraus resultierenden Strömungsverhältnisse näher eingegangen.

Strömungen durch Kapillarrohre, deren nach

$$Re = \frac{\bar{u} \cdot a \cdot \rho}{\eta_M} \quad (\text{III.1})$$

- mit a charakteristische Abmessung des durchströmten Bauelements (hier $a = 2 \cdot r$)
 η_M dynamische Viskosität des strömenden Gases
 \bar{u} mittlere Strömungsgeschwindigkeit
 ρ Dichte des strömenden Gases

berechnete Reynoldszahl Re kleiner als der kritische Wert von $Re = 2300$ ist [Edelmann, 1998], bezeichnet man als stabil laminar. Sie lassen sich durch das modifizierte Hagen-Poiseuille-Gesetz in einer Form beschreiben, welche der Expansion des strömenden Gases infolge des längs des Rohres abfallenden Druckes Rechnung trägt [Edelmann, 1998]:

$$I = \frac{d(p \cdot V)}{dt} = \frac{r^4 \cdot \pi}{8 \cdot l \cdot \eta_M} \cdot \frac{(p_1 + p_2)}{2} \cdot (p_1 - p_2) \quad (\text{III.2})$$

- mit I Gasströmung am Ausgang der Kapillare
 p_1 Druck am Eingang der Kapillare
 p_2 Druck am Ausgang der Kapillare
 r Innendurchmesser der Kapillare
 l Länge der Kapillare
 η_M dynamische Viskosität des strömenden Gases

Analog gilt für den Gasfluß F [Leibnitz und Stuppe, 1984]

$$F_{1/2} = \frac{r^4 \cdot \pi}{8 \cdot l \cdot \eta_M} \cdot \frac{(p_1 + p_2)}{2 \cdot p_{1/2}} \cdot (p_1 - p_2) \quad (\text{III.3})$$

- mit $F_{1/2}$ Gasfluß am Eingang (F_1) bzw. Ausgang (F_2) der Kapillare, gemessen bei p_1 bzw. p_2

Befindet sich der Ausgang der Kapillaren im Hochvakuum, vereinfacht sich (III.3) zu

$$I = \frac{d(p \cdot V)}{dt} = \frac{r^4 \cdot \pi}{8 \cdot l \cdot \eta_M} \cdot \frac{p_1^2}{2} \quad (\text{III.4})$$

Aus der allgemeineren Form

$$I = \frac{d(p \cdot V)}{dt} = L \cdot (p_1 - p_2) \quad (\text{III.5})$$

läßt sich die Berechnungsformel für den Strömungsleitwert L ableiten. L ergibt sich demnach zu [Edelmann, 1998]

$$L = \frac{I}{(p_1 - p_2)} \quad (\text{III.6})$$

1.3 Meßsignal bei Direktinjektion des Kopfraumgases

Der Einlaß unaufgetrennter gasförmiger Mehrkomponentengemische ins Massenspektrometer läßt sich in zwei Phasen einteilen. Die erste Phase besteht in der Entspannung des Kopfraumgases in die offene Kopplung, die zweite Phase besteht in der Überführung definierter Mengen des entspannten Gasgemisches ins Massenspektrometer. Wichtig ist in diesem Zusammenhang, daß die beiden Vorgänge nicht in zeitlicher Abfolge, sondern parallel ablaufen, sobald der Dosiervorgang eingeleitet wird.

Das Prinzip, das der Entspannung des Probenheadspaces in die offene Kopplung zugrunde liegt, ist die Expansion des Kopfraumgases von der Seite höheren Drucks (druckbeaufschlagtes, thermostatisiertes Probenfläschchen) auf die Seite niedrigen Drucks (Atmosphärendruck der offenen, beheizten Kopplung). Die Entspannung erfolgt dabei nicht schlagartig. Der Druck im Probenfläschchen wird langsam und kontinuierlich abgebaut, indem das Kopfraumgas durch die beheizte Transferkapillare aus dem Probenfläschchen abgeführt wird.

Der Druckabfall im Probenfläschchen geht mit einer Abnahme der Gasströmung am Ausgang der offenen Kopplung einher (Abb. III.2).

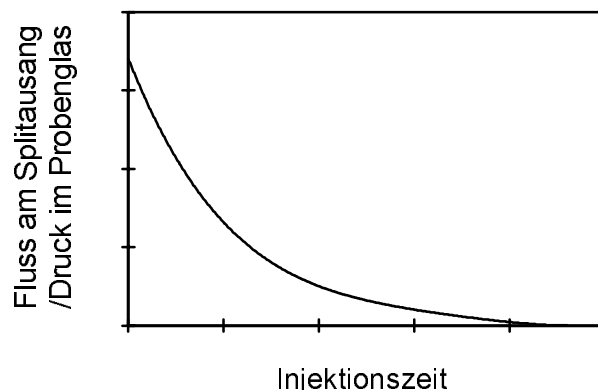


Abb. III.2: Gasströmung am Ausgang der offenen Kopplung / Druck im Probenglas während der Injektion des Dampfraumgases

Unter den gegebenen Meßbedingungen kann man davon ausgehen, daß es um eine isenthalpische Expansion des Probenheadspaces handelt. Dies ergibt sich aus der Abschätzung der Temperaturänderung des expandierenden Dampfraumgases auf Basis der Joule-Thomson-Koeffizienten μ_{JT} (Tab. III.2).

Tab. III.2 Joule-Thomson-Koeffizient bei Atmosphärendruck und 298 K [Atkins, 1987]

Gasart	μ_{JT} ($10^{-5} \text{ K Pa}^{-1}$)
Helium	-0,059
Stickstoff	0,25

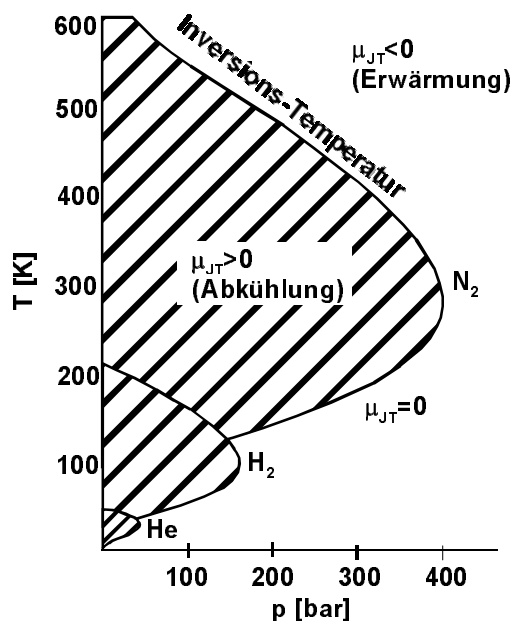


Abb. III.3: Vorzeichen des Joule-Thomson-Koeffizienten für Helium, Wasserstoff und Stickstoff [Atkins, 1987]

Die durch Expansion bedingte Abkühlung des Kopfraumgases beträgt $0,1 \text{ }^\circ\text{C}$. Sie ist damit so klein, daß sie durch Aufnahme thermischer Energie während der Strömung durch die beheizten Transferkapillaren kompensiert werden kann. Bei der Abschätzung der auftretenden thermodynamischen Effekte ist zu berücksichtigen, daß unter den gegebenen Versuchsbedingungen unterhalb der Inversionstemperatur von Helium, jedoch oberhalb der Inversionstemperatur von Stickstoff gearbeitet wird (Abb. III.3).

Die Form des Meßsignals wird im wesentlichen davon bestimmt, ob und wie stark sich die Gasphasenkonzentration des Analyten während des Dosierungsvorgangs ändert. Die Konzentrationen flüchtiger Probeninhaltsstoffe im Dampfraum über einer Probe wird durch deren Dampfdruckwerte und deren Verteilungskoeffizienten für das thermodynamische Gleichgewicht zwischen Matrix und darüber befindlichem Dampfraum bestimmt. Durch Abtransport von Probenmolekülen aus dem Fläschchen ändert sich während des Dosierungsvorgangs die Konzentration des Analyten im Dampfraum. Da der Druck im Probenfläschchen nur langsam abgebaut wird, ändert sich währenddessen auch der Dampfdruck des Analyten.

Bei Proben natürlichen Ursprungs mit festen oder flüssigen Matrices hat dies in praxi keinen Einfluß, da die Gasphasenkonzentrationen der flüchtigen Inhaltsstoffe im wesentlichen durch die Einstellung von deren Verteilungsgleichgewichten bestimmt wird. Sie erfolgt nur sehr langsam und kann daher die Abnahme der Partialdrücke, die die Analyten im Probenfläschchen ausüben, nicht kompensieren. Auch die Änderung des Dampfdrucks jedes Analyten während der Dosierung besitzt keine Bedeutung, da sie klein gegenüber der Druckdifferenz der beiden Gaszustände ist. Folglich ist von einer gleichbleibenden Konzentration der Probeninhaltsstoffe im Kopfraum

über der Matrix auszugehen. Bei HS-MS-Messungen derartiger Proben werden Signale in Rechteckform erhalten (Abb. III.4b).

Bei (flüssigen) Reinsubstanzen treten die eben beschriebenen Matrixeffekte nicht auf. Hier kann im Verlauf der Injektion eine kontinuierliche Zunahme des Meßsignals (Abb. III.4a) beobachtet werden. Das Bestreben zur Aufrechterhaltung des Partialdrucks führt zu einer Zunahme der absoluten Konzentration in der Gasphase, da für Reinsubstanzen der Übertritt von Molekülen in die Gasphase nur geringe kinetische und thermodynamische Hinderung erfährt.

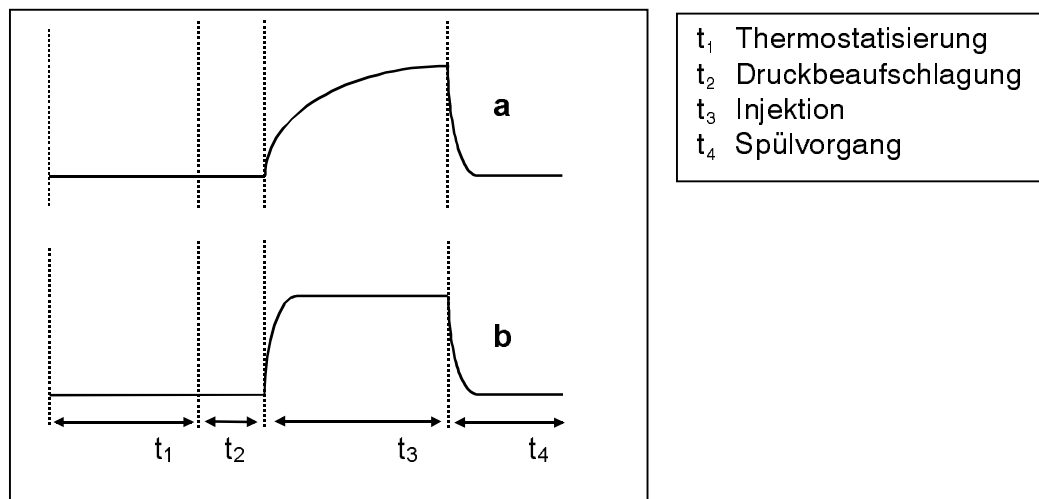


Abb. III.4: Meßsignal bei HS-MS Analyse a) Reinsubstanz
b) Probe natürlichen Ursprungs

2. Grundlegende Aspekte der Auswertung massenspektrometrischer Daten mit multivariaten Methoden

In der modernen analytischen Chemie kann man zur Auswertung massenspektrometrischer Daten auf multivariate Techniken nicht mehr verzichten. Bei weitem am häufigsten werden Methoden der Mustererkennung bei der sogenannten Bibliothekssuche verwendet, deren Ziel die Identifizierung unbekannter Verbindungen durch Vergleich ihrer (experimentell ermittelten) Massenspektren mit Referenzspektren einer MS-Bibliothek ist.

Bereits seit den frühen 70er Jahren wurde die Eignung zahlreicher Algorithmen zur korrekten Klassifizierung unbekannter MS-Spektren untersucht, so daß wegen der unübersehbaren Fülle der auf diesem Gebiet erschienenen Publikationen hier nur Verweise auf Veröffentlichungen mit Übersichtscharakter gegeben werden können, z.B. Justice und Isenhour (1974), Mellon (1977), Martinsen und Song (1985), McLafferty und Stauffer (1985) und McLafferty (1990). Die herausragende Bedeutung der Mustererkennung in der laboratorischen Praxis ist daran zu erkennen, daß heutzutage im Lieferumfang nahezu jedes Massenspektrometers neben der NIST/EPA-NIH MS-Bibliothek auch die entsprechende Software zur Bibliothekssuche inbegriffen ist. Darüberhinaus werden multivariate Methoden dazu herangezogen, auf der Basis von MS-Daten Strukturvorhersagen zu treffen [Isenhour und Jurs, 1971; Justice und Isenhour, 1975].

Die praktische Anwendung von Methoden der Mustererkennung zur Interpretation und Klassifizierung von Substanzgemischen anhand ihrer Gesamtspektren wurde bislang nur im Zusammenhang mit Pyrolyse-Massenspektrometrie behandelt [Voorhees und Tsao, 1985; Anklam et al., 1998], obwohl die Anwendung der Faktorenanalyse auf Massenspektren binärer Mischungen [Lawton und Sylvester, 1971; Sharaf und Kowalski, 1981; Sharaf und Kowalski, 1982; Ritter et al., 1976] und ternärer Mischungen [Sharaf et al., 1986] bereits ausführlich diskutiert wurde.

Die grundlegende Voraussetzung für die Auswertung massenspektrometrischer Daten mit multivariaten Techniken besteht darin, daß das (Gesamt-)Massenspektrum einer unaufgetrennten Mischung aus n Komponenten sich als Linearkombination der (Einzel-)Spektren dieser n Komponenten darstellen läßt. Jedes Einzelspektrum wird durch einen n -dimensionalen Vektor repräsentiert, dessen Dimension n durch die Zahl der Fragmentierungsbruchstücke bestimmt wird. Das Gesamtspektrum der Mischung ergibt sich wiederum als gewichtete Summe der Einzelspektren $A \dots N$ der in der Mischung enthaltenen Verbindungen. Wichtungsfaktoren sind die jeweiligen Molenbrüche f der Komponenten in der Mischung. Für das Gesamtspektrum S gilt demnach:

$$S = f_a A + f_b B + \dots + f_n N \quad (\text{III.7})$$

Die Intensität jeder Masseposition m/z (s_i) dieses Gesamtspektrums berechnet sich nach

$$s_i = f_a a_i + f_b b_i + \dots + f_n n_i \quad (\text{III.8})$$

aus den Intensitäten der Massepositionen $a_i \dots n_i$ der jeweiligen Einzelspektren. Sind die Einzelspektren und die Molenbrüche der an einer Mischung beteiligten Verbindungen bekannt, läßt sich das Gesamtspektrum dieser Mischung nach (III.8) berechnen.

3. Vorteile des MS-Sensors

Mit der Wahl der Massenspektrometrie als Sensortechnologie werden nicht nur die an die Einzelsensoren gestellten Anforderungen bezüglich Ansprechverhalten, Langzeitstabilität und Reproduzierbarkeit erfüllt, sondern auch die flexible Anpassung des Arrays an das Meßproblem ermöglicht. Durch Auswahl von Fragmentationen, die repräsentativ für die zu erfassenden Probeneigenschaften sind, kann das Array hinsichtlich Größe und Selektivität für jede Anwendung maßgeschneidert werden. Je nach Aufgabenstellung kann die Diskriminierung auf Basis von Inhaltsstoffen unterschiedlichster Konzentrationen erfolgen. Sind die Intensitäten der gewählten Fragmentationen sehr klein, erfolgt die Registrierung der Fragmentationen zweckmäßigerweise mit Hilfe der Selected Ion Monitoring-Technik. Dies gewährleistet größtmögliche Empfindlichkeit und ist insbesondere dann von Interesse, wenn Neben- oder Spurenkomponenten für die zu erfassende Probeneigenschaft verantwortlich sind. Sollen Unterschiede in der Zusammensetzung der Hauptkomponenten erfaßt werden, sind die Intensitäten der gewählten Fragmentationen in den meisten Fällen groß genug für eine Aufnahme des kompletten Massenbereichs mittels Full-Scan-Technik. Mit einem nutzbaren linearen Bereich von 10^6 Größenordnungen und Nachweisgrenzen im ppt-Bereich ist ein Sensorsystem auf massenspektrometrischer Basis im Hinblick auf universelle Einsetzbarkeit und Nachweisempfindlichkeit jedem herkömmlichen Chemosensor überlegen.

Ein weiterer Vorteil gegenüber gängigen Systemen liegt darin, daß man sich mit der Verwendung der Massenspektrometrie ein in allen Details bekanntes, einheitliches

physikalisches Meßprinzip zunutze macht. Auf verschiedenen MS-Sensoren erfolgte Klassifikationen sind daher vorbehaltlos miteinander vergleich- und übertragbar. Die für den wissenschaftlichen Informationsaustausch stets geforderte Gleichartigkeit der Ergebnisse ist bei Verwendung der Massenspektrometrie als neuartiger Sensortechnologie erstmals gegeben: Dies ist insofern ein entscheidender Fortschritt, als bislang weder die vergleichende Bewertung der mit Sensorsystemen unterschiedlicher Technologie erhaltenen Ergebnissen noch die verlässliche Übertragbarkeit der mit unterschiedlichen Systemen desselben Typs erhaltenen Aussagen möglich war.

IV Apparativer Aufbau des verwendeten MS-Sensorsystems

In diesem Kapitel wird das im Rahmen der vorliegenden Arbeit entwickelte Sensorsystem auf massenspektrometrischer Basis, im folgenden auch kurz als MS-Sensor bezeichnet, vorgestellt. Dabei steht zunächst der detaillierte Aufbau der Apparatur im Vordergrund. Anschließend wird näher auf die zugrundeliegenden Meßprinzipien eingegangen. Meßanordnung und Meßverfahren wurden patentrechtlich geschützt [Patentschrift DE 19713194C2].

1. Aufbau des Gesamtsystems

Das System bestand aus vier Funktionsbereichen, sein Aufbau ist in Abb. IV.1 schematisch dargestellt.

- Probenaufgabesystem – Headspace-Sampler HS 40 zur Probenezuführung unter Einsatz der statischen Headspace-Technik
- Gaschromatographische Einheit – Siemens Sichromat 1-4 zur Bereitstellung einer thermostatisierbaren Umgebung für 6-Wege-Ventil und offene Kopplung sowie zur Durchführung der gaschromatographischen Trennung
- Detektionssystem – Quadrupol-Massenspektrometer Finnigan 4500 (Finnigan, Bremen) zur Ionisierung und Analyse der Probenbestandteile
- System zur Datenauswertung – Personal Computer Pentium 133 MHz zur automatischen Steuerung, Meßwerverfassung und Meßwertbearbeitung

Das entwickelte System besaß zwei Funktionen:

Neben der Direktinjektion des Kopfraumgases ohne Trennung (Abb. IV.2, Ventilstellung I) war durch Umschalten des 6-Wege-Ventils (Valco, Schweiz) die Injektion auf eine gaschromatographische Trennsäule möglich.

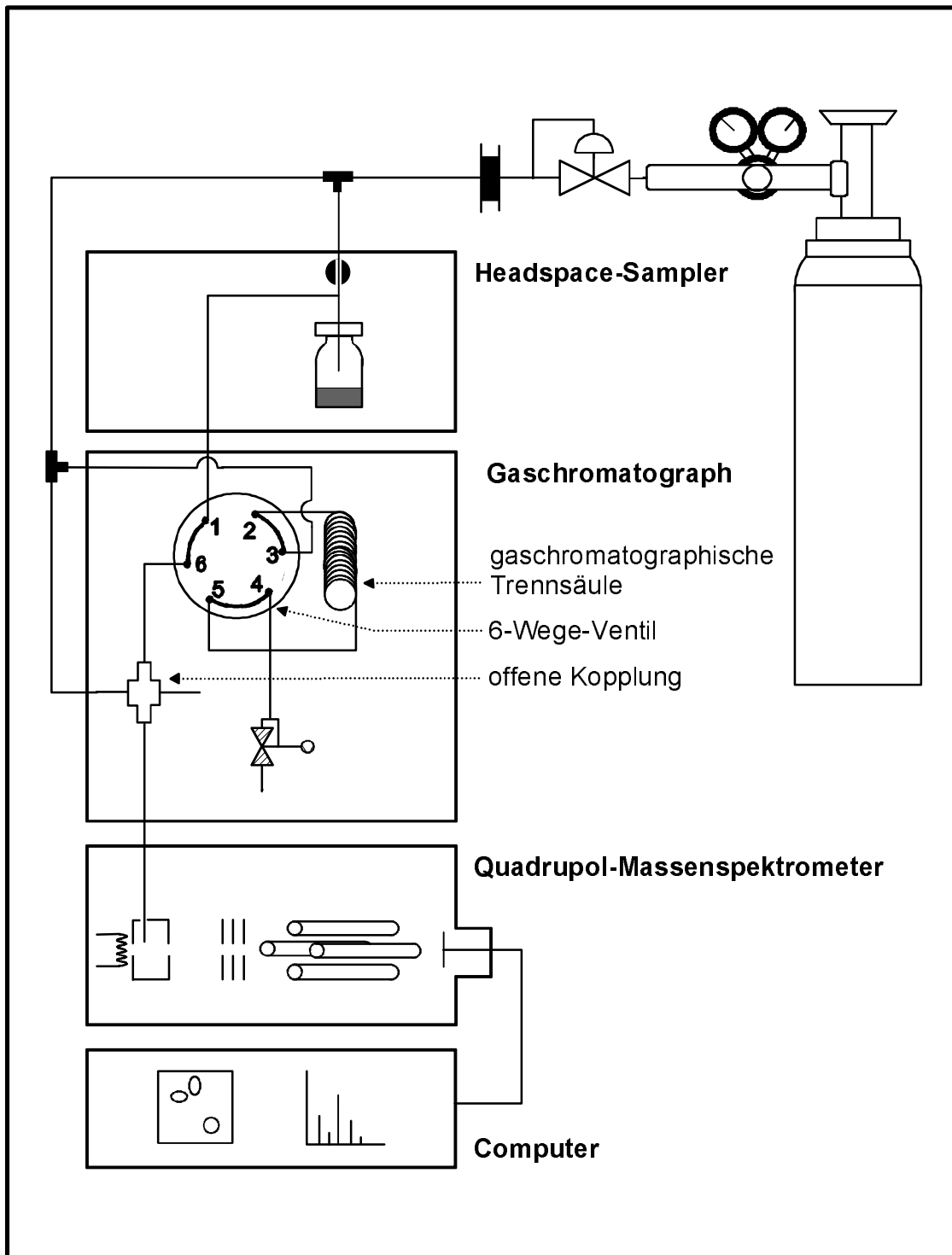


Abb. IV.1: Schemazeichnung des verwendeten MS-Sensors

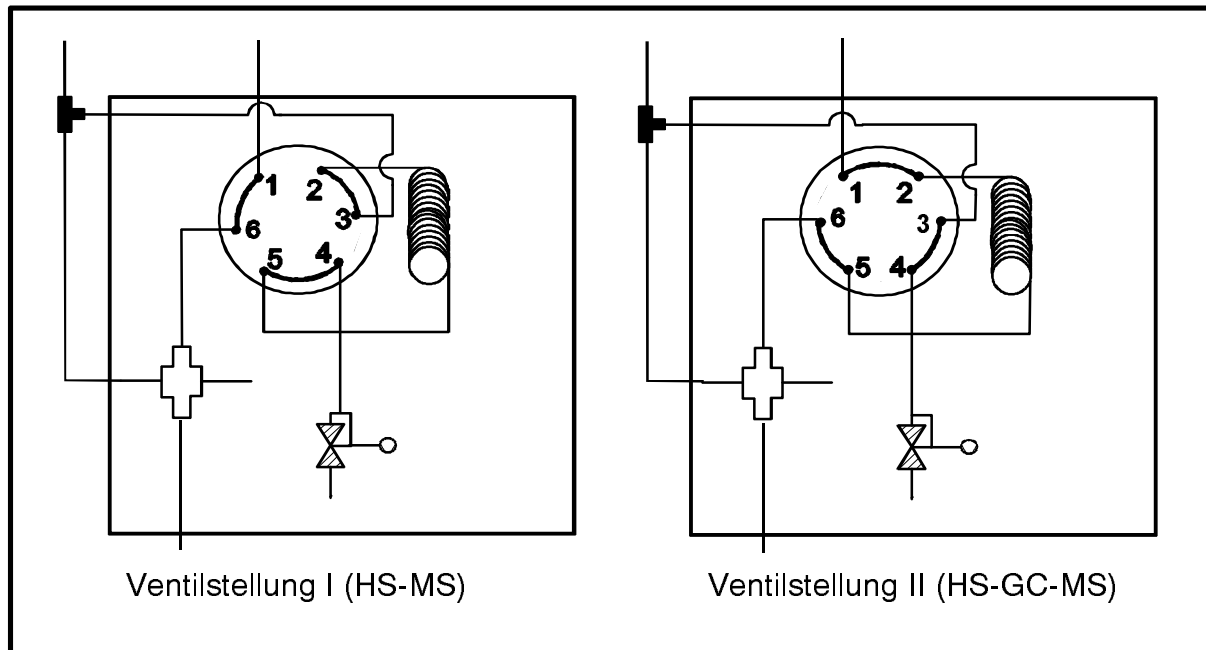


Abb. IV.2: Ventilstellungen zur Durchführung von HS-MS und HS-GC-MS-Analysen

Das System konnte also je nach Bedarf als MS-Sensor (Direktinjektion ohne Trennung) oder als Headspace-GC-MS-System (mit gaschromatographischer Trennung) genutzt werden. Dies war insofern von Vorteil, als auch die im Rahmen der Entwicklung einer Meßmethode oftmals notwendige Identifizierung unbekannter Probenbestandteile in derselben Meßumgebung vorgenommen werden konnte wie die jeweiligen Sensormessungen.

2. Headspace-Probenaufgabesystem

Bei der statischen Headspace-Analyse wird die zur Messung gelangende Probe einem abgeschlossenen statischen System, der verschlossenen Headspace-Flasche, entnommen. Dies erfolgt, nachdem sich das thermodynamische Gleichgewicht zwischen flüssiger/fester Matrix und dem darüber befindlichen Dampfraum eingestellt hat.

Die Probenaufgabe erfolgte automatisiert mit Hilfe eines Headspace-Samplers der Firma Perkin Elmer, Modell HS 40.

Abb. IV.3 zeigt das Prinzip, das der hier verwendeten Probenaufgabetechnik zugrunde liegt. Die Probenaufgabe bestand im wesentlichen aus drei aufeinanderfolgenden Schritten: der Thermostatisierung des Probenfläschchens, der Druckbeaufschlagung und der Entspannung des Headspaces.

Eine Hohlneedle aus Edelstahl bewegte sich in einem beheizten Führungszylinder, welcher zur Verhinderung von Kontamination ständig mit einem schwachen Gasstrom gespült wurde. Während das Fläschchen thermostatisiert wurde, befand sich die Injektionsnadel in Standby-Stellung (Abb. A). Dabei war der Führungszylinder durch Membranen aus Silicongummi gasdicht abgeschlossen. Anschließend erfolgte die Druckbeaufschlagung (Abb. B): Die Nadel durchstach das Septum des Probenfläschchens und ermöglichte so den Fluß von Trägergas ins Gläschen.

Der darin aufgebaute Druck entsprach dem Trägergasvordruck, welcher geräteseitig am Headspace-Sampler vorgewählt werden konnte. Nachdem die Druckbeaufschlagung erfolgt war, wurde der Dosiervorgang ausgelöst. Dazu schloß sich das Magnetventil 1, und die Zufuhr von Trägergas wurde kurzzeitig unterbrochen (Abb. C).

Der folgende Druckausgleich zwischen Probenfläschchen und „Injektor“, d.h. dem Ende der Transferkapillaren, war gleichbedeutend mit der Probenaufgabe in den „Injektor“: Die injizierte Gasmenge war variabel, sie wurde über die Dauer des Injektionsvorgangs gesteuert. Durch Öffnen des Magnetventils 1 wurde der Dosiervorgang beendet. Da der wiederhergestellte Vordruck des Trägergases größer als der Restdruck im Probenfläschchen war, wurde mit Öffnen des Ventils 1 die Förderung der Probe sofort unterbunden. Das nachströmende Trägergas spülte die Transferkapillare und Dosiernadel von Probe frei.

Die hier verwendete Injektionstechnik brachte es mit sich, daß im Verlauf eines Dosiervorgangs die Gasströmung aus dem Probenfläschchen absank (siehe auch Kap. III.1.3). Um die Flußrate der Gasströmung ins Massenspektrometer konstant zu halten, war die Verwendung einer offenen Kopplung zwischen Massenspektrometer und Aufgabesystem zwingend notwendig.

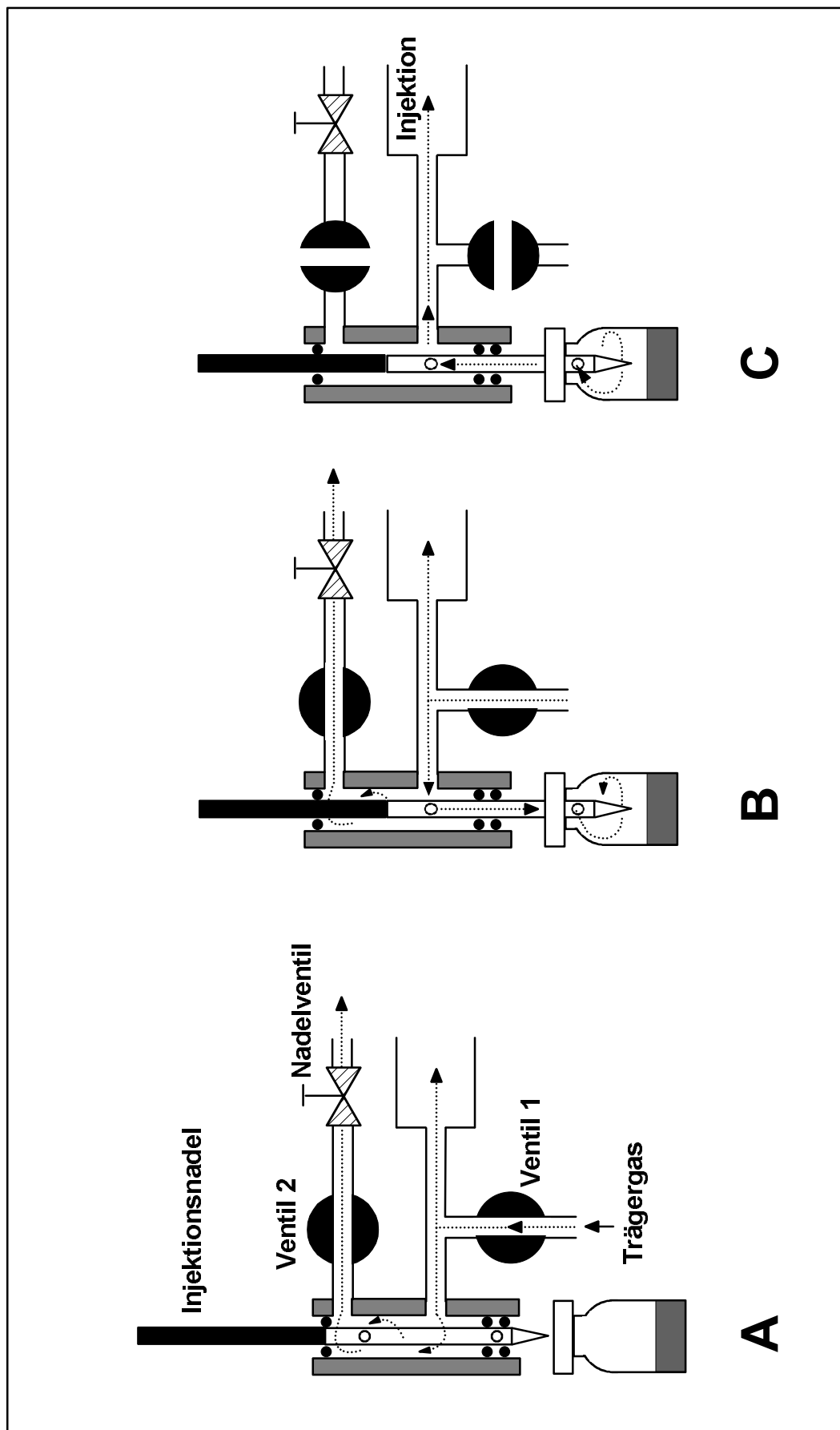


Abb. IV.3: Schematischer Ablauf des Dosiervorgangs

Die statische Headspace-Technik ist eine Methode der Probenzuführung, die hervorragend zur Erfassung der leicht- und mittelflüchtigen Inhaltsstoffe einer Probe geeignet ist. Sie ist nicht nur auf Probengut unterschiedlicher Matrices (fest, flüssig, gasförmig) anwendbar, sondern es entfallen auch aufwendige Arbeitsschritte wie das Extrahieren der Probe, das Clean-up und die Aufkonzentration. Da automatisierte Headspace-Sampler, seit Mitte der 70er Jahre bereits kommerziell erhältlich, einen hohen Probendurchsatz gewährleisten, ist die Messung einer Vielzahl von Einzelproben einfach und schnell zu bewältigen. Da dies vor allem im Falle einer Datenauswertung mittels multivariater Datenanalyse zwingend erforderlich ist, sind viele kommerziell erhältliche Chemosensorsysteme mit Headspace-Autosamplern ausgestattet.

3. Strömungsverhältnisse

3.1 Apparative Rahmenbedingungen

Tab. IV.1 gibt eine Übersicht über die apparativen Rahmenbedingungen.

Tab. IV.1: Apparative Gegebenheiten

Kapillare	i.D. (mm)	l (m)
HS-Transferkapillare	0,32	1,75
Verbindungskapillare 6-Wege-Ventil/offene Kopplung	0,50	0,05
Spülgasausgang der offenen Kopplung	0,50	0,20
MS-Restriktionskapillare	0,18	3,00
GC-Säule	0,25	30,00

2,4 m der MS-Restriktionskapillaren befanden sich im Ofen des GC. Von den 0,6 m der Kapillaren, welche sich außerhalb des Ofenraums befanden, wurden 45 cm mit Hilfe eines Heizungsbandes auf einer Temperatur von 160 °C gehalten. Die verbliebenen 15 cm wurden in der MS-Eingangverschraubung auf 250 °C gehalten.

3.2 Strömungskennzahlen

Tab. IV.2 gibt eine Übersicht über die aus den apparativen Rahmenbedingungen resultierenden Strömungskennzahlen.

Tab. IV.2: Strömungskennzahlen

Betriebsart	Gasweg: durchströmte Bauteile	T _{GC} (°C)	p _E (bar)	p _A (bar)	L (10 ⁻⁷ m ³ /s)	Re	F ₂ (ml/ min)	F ₁ (ml/ min)
HS-MS-Analyse								
	HS-Kapillare und Verbindungs- kapillare	150	2,00	1,01	1,19	11,44	44,60	
	MS-Kapillare	150	1,01	HV	4,42	0,35		0,80
HS-GC-MS-Analyse								
	HS-Kapillare	150	2,00	1,98	1,58	0,30	0,60	
	GC-Säule und Verbindungs- kapillare	50	1,98	1,01	3,16	0,61	1,16	
	MS-Kapillare	50	1,00	HV	5,44	0,71		1,00

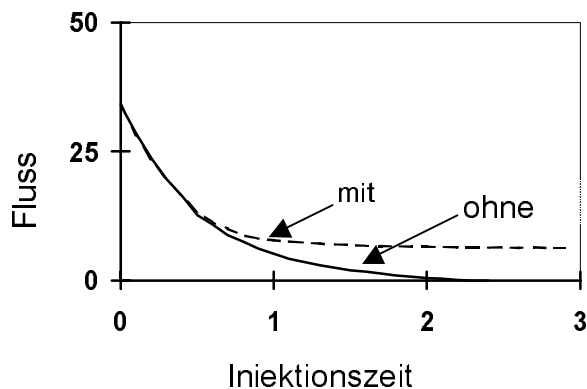
Wie aus Tab. IV.2 ersichtlich ist, war auf dem gesamten Gasweg die kritische Reynoldszahl $Re = 2300$ mit Werten zwischen 0,30 und 11,44 so weit unterschritten, daß die Strömung mit Sicherheit als laminar angenommen werden konnte und damit durch das Hagen-Poiseuillesche Gesetz (III.2) beschrieben wurde. Die nach (III.3) errechneten Flußraten am Eingang (F_1) bzw. am Ausgang (F_2) der Kapillaren sind ebenfalls in Tab. IV.2 aufgenommen.

4. Leistungsfähigkeit der Arbeitsweise und Apparatur

4.1 Meßsignal

Der praktische Einsatz der Datenauswertung mittels Hauptkomponentenanalyse ist immer auch daran zu bemessen, ob die Meßsignale hinsichtlich Intensität und Form ausreichend reproduzierbar sind. Vor allem die Signalform ist eng mit der Aufgabetechnik und den physikalischen Vorgängen während der Probeninjektion verknüpft. Nachdem die apparativen Kenngrößen des Sensor-MS-Systems bereits unter IV.3 erläutert wurden, schließt sich nun eine differenzierte Betrachtung leistungsbestimmender Parameter an.

Abb. IV.4 zeigt den zeitlichen Verlauf der Gasströmung mit und ohne Spülgasstrom von 10 ml/min für einen Trägergasvordruck von jeweils 1 bar. Sie wurde während der Injektion des Probenheadspaces am Ausgang der offenen Kopplung gemessen.



Für eine Injektionszeit von bis zu 1,6 min war der Gasfluß aus dem Probenfläschchen größer als der Gasfluß ins Massenspektrometer, so daß währenddessen ein stabiles Meßsignal erhalten wurde.

Abb. IV.4 Gasströmung am Ausgang der offenen Kopplung – mit und ohne Spülgasströmung

In Abb. IV.5 sind die Gasströmungen am Ausgang der offenen Kopplung für verschiedene Trägergasvordruckwerte gegenübergestellt. Der Spülgasstrom betrug hier jeweils 10 ml/min. Für Vordruckwerte >1 bar waren nur Meßsignale für Injektionszeiten <1 min nutzbar, da bereits nach 0,5 min der Fluß aus dem Probenfläschchen auf Werte <1 ml/min sank und somit kleiner als der Gasfluß ins MS wurde.

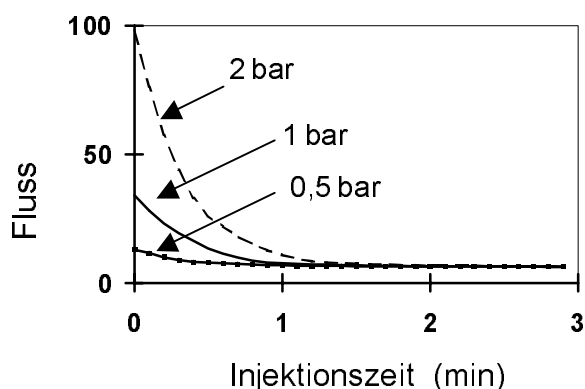


Abb. IV.5 Gasströmung am Ausgang der offenen Kopplung – verschiedene Trägergas-vordruckwerte

4.2 Wiederholbarkeit

Die Leistungsfähigkeit der Arbeitsweise kann am besten anhand der Reproduzierbarkeit einer Analyse überprüft werden. Zu diesem Zwecke wurde eine Probe, Pentan in Maiskeimöl (Konzentration 17 ppm), jeweils in 10 Flaschen gefüllt und sowohl im HS-MS als auch im HS-GC-MS Modus analysiert. Aus den registrierten Chromatogrammen wurden die Signalhöhen der Fragmentationen m/z 57 und m/z 72 entnommen und die relativen Standardabweichungen berechnet.

Tab. IV.3: Daten zur Wiederholbarkeit von HS-MS und HS-GC-MS Analysen

	t_{inj} (min)	T_{GC} (°C)	\bar{I}		s		s (%)		V	
m/z			72	57	57	72	57	72	57	72
HS-MS	1	150	1255	589	39	21	3,1	3,5	1255 ± 39	4776 ± 158
HS-GC-MS	1	50	10583	4776	327	158	3,1	3,3	10583 ± 328	4776 ± 158

\bar{I} Ionenintensität, Mittelwert aus 10 Messungen

s Standardabweichung

V Vertrauensgrenze für \bar{I} mit $\pm \frac{t}{\sqrt{n}} \cdot s$ bei einer statistischen Sicherheit von 99,73 % (3σ -Regel)

t_{inj} Injektionszeit, T_{GC} Ofentemperatur

Aus Tab. IV.5 geht hervor, daß sich Messungen im HS-MS Betrieb und im HS-GC-MS-Betrieb mit Standardabweichungen $\leq 3,5\%$ ausführen ließen.

4.3 Linearität

Bei den in der analytischen Praxis untersuchten Proben handelte es sich um ideal verdünnte Mischungen. Die Dampfdruckwerte und die Gas/Matrix-Verteilungskoeffizienten der Inhaltsstoffe sind somit keine Funktion der Konzentration. Die gemessenen Signalthöhen (bzw. Signalflächen) nehmen linear mit steigender Stoffmenge der Substanzen in der Mischung zu. Um zu überprüfen, ob diese Proportionalität in praxi gewährleistet ist, wurde Pentan in Konzentrationen zwischen 17 ppm und 100 ppm in Maiskeimöl vorgelegt und sowohl mittels HS-MS als auch mittels HS-GC-MS-Analyse vermessen. Mit SIM-Technik wurden Massenchromatogramme der Fragmentionen m/z 57 und m/z 72 aufgezeichnet. Die ermittelten Signalthöhen und Signalflächen sind in Tab. IV.6 aufgeführt.

Tab. IV.4: Abhängigkeit der Signalthöhen und Signalflächen der Fragmentionen m/z 57 und m/z 72 von der Pentankonzentration und der Injektionszeit

	c_p (ppm)	t_{inj} (min)	Signalhöhe ^a (Zählereignisse)		Signalfläche ^a (10^6 Zählereignisse)	
			m/z 57	m/z 72	m/z 57	m/z 72
HS-MS	17	3,00	1261	594	25,00	10,30
	50	3,00	2803	1414	56,44	28,12
	75	3,00	4354	1897	90,41	37,44
	17	0,50	1015	548	2,58	1,31
	17	1,00	1120	578	7,52	2,81
HS-GC-MS	17	0,25	5689	2334	5,20	1,92
	17	0,50	9183	3806	10,78	4,52
	17	1,00	11019	5805	17,60	7,81
	50	1,00	34999	8648	126,99	31,55
	75	1,00	73776	26327	277,43	100,13

^a Mittelwert aus 2 Messungen

In den Abbildungen IV.6 und IV.8 ist für m/z 57 und m/z 72 die Abhängigkeit der Signalthöhe von der Pentan-Konzentration für die HS-MS-Analyse und die HS-GC-MS-Analyse dargestellt. Der Einfluß variabler Injektionszeiten auf die Peakflächen von m/z 57 und m/z 72 wird in den Abbildungen IV.7 und IV.9 gezeigt. Es läßt sich eine lineare Abhängigkeit der Signalthöhen der Fragmentionen m/z 57 und m/z 72 von der Konzentration der vorgelegten Probe feststellen. Diese liegt sowohl für die HS-MS-Analyse als auch die HS-GC-MS Analyse vor. Außerdem kann die Proportionalität von Signalfläche und Konzentration des untersuchten Inhaltsstoffs bestätigt werden.

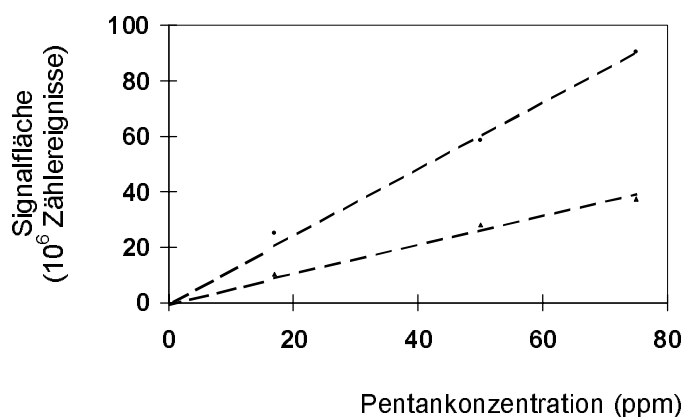


Abb. IV.6: Signalflächen bei verschiedenen Pentankonzentrationen (HS-MS-Analyse)

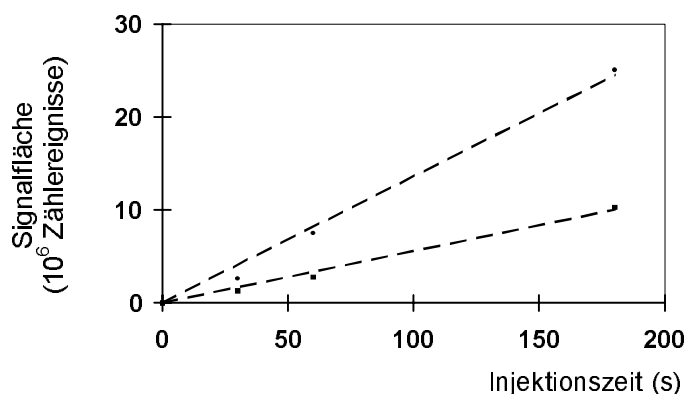


Abb. IV.7: Signalflächen bei verschiedenen Injektionszeiten (HS-MS-Analyse)

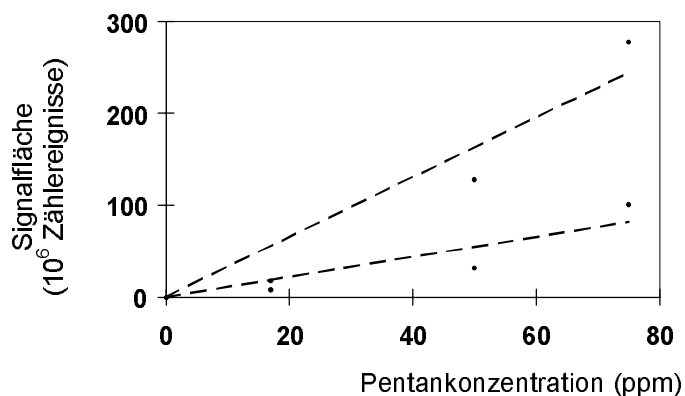


Abb. IV.8: Signalfächen bei verschiedenen Pentankonzentrationen (HS-GC-MS-Analyse)

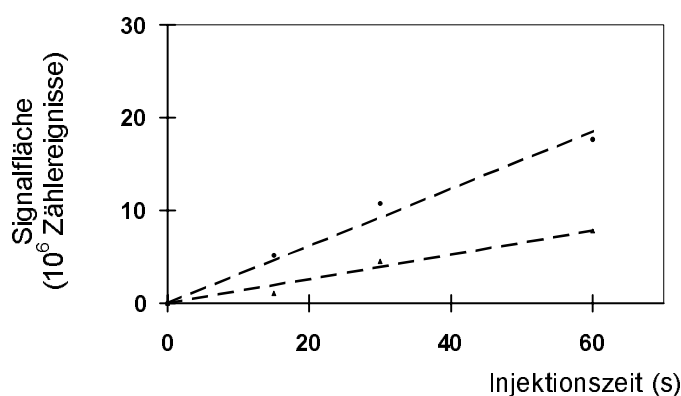


Abb. IV.9: Signalfächen bei verschiedenen Injektionszeiten (HS-GC-MS-Analyse)

4.4 Empfindlichkeit

Im folgenden werden die Empfindlichkeiten bei Injektion im HS-MS und bei Injektion im HS-GC-MS-Betrieb gegenübergestellt. Die Empfindlichkeit einer Messung steht im direkten Zusammenhang mit der durch die Restriktionskapillare begrenzten Gasströmung ins Massenspektrometer. Im Falle der Direktinjektion wird der Probenheadspace auf den in der offenen Kopplung herrschenden Druck von 1 bar entspannt. Die ins Massenspektrometer injizierte Gasmenge V_{inj} ergibt sich als Produkt aus der Flußrate F_{MS} der MS-Restriktionskapillaren und der Injektionszeit t_{inj} .

$$V_{inj} = t_{inj} \cdot F_{MS} \quad (IV.1)$$

Mit der nach (III.3) berechneten Flußrate von 0,8 ml/min (Tab. IV.2) in der MS-Transferkapillaren ergibt sich bei einer Ofentemperatur von 150 °C ein Splitverhältnis von 1 : 56. Da der Beaufschlagungsdruck des Probenfläschchens in jedem Falle größer als der in der Kopplung herrschende Druck von 1 bar ist, kann man im Fall der Direktinjektion von einem sogenannten Überdruck-Probenaufgabesystem sprechen. Dies geschieht in Anlehnung an eine bereits von Göke (1970) und Pauschmann (1972) beschriebene Kopplung von Headspace-Sampler und Gaschromatograph, in der ein split/splitless-Injektor als Kopplungskomponente fungiert.

Anders verhielt es sich, sobald das im Rahmen dieser Arbeit entwickelte System als Headspace-GC-MS System genutzt wurde. In Ventilstellung II waren Headspace-Transferkapillare und gaschromatographische Trennsäule über zwei benachbarte Ausgänge des 6-Wege-Ventils (Abb. IV.2) direkt miteinander verbunden, die Entspannung des Kopfraumgases erfolgte hier durch die gaschromatographische Trennsäule in die offene Kopplung. Im Anschluß daran fand im Laufe der gaschromatographischen Analyse temperaturabhängiges Nachsäulensplitting statt. War bei der Injektion des Kopfraumgases die Ofentemperatur kleiner als die Betriebstemperatur der HS-Transferkapillaren, war die Empfindlichkeit aufgrund einer durch „Kondensation“ bewirkten „Aufkonzentrierung“ proportional zur gewählten Injektionszeit. Zusätzlich hatten die physikochemischen Eigenschaften (Flüchtigkeit) und das gaschromatographische Verhalten (Retentionszeit) der jeweiligen Verbindung Einfluß auf ihre Nachweisgrenze. Der Druck im Probenfläschchen entsprach dem Vordruck der gaschromatographischen Trennsäule, man bezeichnet diese Dosierungstechnik deshalb als „balanced pressure sampling“ oder „Gleichdruckdosierung“.

In Tabelle IV.5 werden für Pentan der Konzentration 17 ppm (in Maiskeimöl) die Signalhöhen und die Signal/Rauschverhältnisse der Fragmentionen m/z 57 und m/z 72 im HS-MS-Betrieb denen im HS-GC-MS-Betrieb beispielhaft gegenübergestellt.

Tab. IV.5: Ionenintensitäten und Signal/Rausch-Verhältnisse bei HS-MS- und HS-GC-MS-Analyse

	t_{inj} (min)	T_{HS-TK} (°C)	T_{GC} (°C)	Signalhöhe ^a		S/N ^a	
				m/z 57	m/z 72	m/z 57	m/z 72
HS-MS	1	140	150	1261	594	13	4
HS-GC-MS	1	140	150	10537	4500	70	30
HS-GC-MS	1	140	60	11019	5805	73	38

^a für HS-MS-Analyse Mittelwerte der scans 980-1080, Mittelwert aus 2 Messungen
für HS-GC-MS Ionenintensität im Peakmaximum; Mittelwert aus 2 Messungen

Wie aus Tab. IV.5 hervorgeht, ist für Pentan bei einer Konzentration von 17 ppm das Signal/Rausch-Verhältnis der Fragmentionen m/z 57 und m/z 72 bei gleicher Ofentemperatur von 150 °C und Injektionszeit 1 min im HS-MS-Betrieb 5,4-fach kleiner als jenes im HS-GC-MS-Betrieb. Da die Temperatur der MS-Restriktionskapillaren bei beiden Meßreihen gleich hoch (150 °C) war, ergab sich auch für beide Meßreihen derselbe Fluß ins Massenspektrometer (0,8 ml/min, Tab. IV.2). Man sollte also für beide Meßreihen zunächst auch ähnlich große Empfindlichkeiten erwarten, zumal die Elutionstemperatur von Pentan mit $T = 60$ °C wesentlich kleiner ist als die Ofentemperatur 150 °C. Als Grund für die niedrigere Empfindlichkeit im HS-MS-Betrieb kann die Anwesenheit von Stickstoff, Sauerstoff und Wasser (sog. Restgas) in der Ionenquelle angenommen werden, welche bei der Direktinjektion des Probenheadspaces aus dem Probenfläschchen gemeinsam mit dem Analyten ins Massenspektrometer gelangt. Im Vergleich zu Helium sind die gaskinetischen Stoßradien dieser Gase 2- (N_2 , O_2) bis 3-mal (H_2O) so groß, ihre mittleren freien Weglängen, z. B. für N_2 und O_2 , halb so groß (Tab. IV.6). Dies führt im Falle der Direktinjektion aufgrund hoher Stoßwahrscheinlichkeit zwischen Analyt und Restgas zu verminderter Transmission. Als weitere mögliche Ursache für die herabgesetzte Empfindlichkeit kommen die vergleichsweise geringen Ionisierungsenergien (Tab. IV.6) und großen Ionisierungsquerschnitte von N_2 , O_2 und H_2O in Frage. Sie bewirken, daß in verstärktem Maße Restgas-Moleküle ionisiert werden, welche dann durch Coulomb-Abstoßung die Fokussierung geladener Fragmentionen des Analyten stören.

Tab. IV.6: Gaskinetische Stoßradien r_∞ , mittlere freie Weglänge Λ_∞ , Ionisierungsenergien W_{ion} für ausgewählte Gase bei $T_\infty \rightarrow \infty$, $p_0=1,33$ mbar, nach Edelmann (1998)

Gas	r_∞ bei T_∞ (10^{-10} m)	Λ_∞ bei T_∞, p_0 (10^{-5} m)	W_{ion} (eV)
He	1,13 ... 1,23	11,90	24,50
N ₂	1,60	6,10	15,80
O ₂	1,48	6,87	12,5
H ₂ O	1,34	9,50	

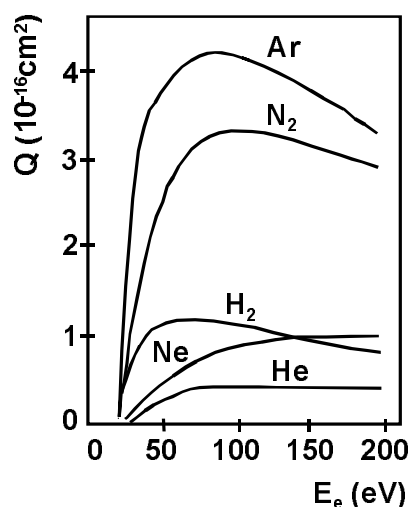


Abb. IV.10: Ionisierungsquerschnitte Q für ausgewählte Gase bei Elektronenstoß in Abhängigkeit von der Elektronenenergie, nach Edelmann (1998)

Ähnlich große Empfindlichkeiten im HS-MS- und HS-GC-MS-Betrieb sind dann zu erwarten, wenn die beim Verschliessen des Probengläschens in den Gasraum eingebrachte Luft vor der Messung durch Helium ersetzt wird. Dies erfordert allerdings einen erheblichen Mehraufwand bei der Probenvorbereitung und ist daher selbst bei durchschnittlichem Probenaufkommen in praxi nicht realisierbar.

Erfolgt die Injektion im HS-GC-MS-Betrieb bei 60 °C Ofentemperatur, ist das Signal/Rausch-Verhältnis für m/z 57 mit S/N um 4,3 % höher, für m/z 72 um 26,7 % höher als bei 150 °C Ofentemperatur. Diese höhere Empfindlichkeit im Fall niedrigerer Ofentemperatur läßt sich damit erklären, daß der Säulenfluß im Falle der höheren Ofentemperatur von 150 °C kleiner ist als bei niedrigerer Ofentemperatur. Die Flußdifferenz von 17 % (bezogen auf einen Säulenfluß von 0,96 ml/min bei 60 °C) führt jedoch nur für m/z 72 zu einer deutlichen Zunahme der Signalintensität, die mit 22,5 % in einer vergleichbaren Größenordnung liegt wie die Flußdifferenz. Für m/z 57 konnte die erwartungsgemäße Zunahme der Signalintensität von 17 % nicht beobachtet werden. Als mögliche Ursache hierfür kommt nur ein Meßfehler in Frage.

4.5 Zusammenfassung

Es wurden Untersuchungen zur Wiederholbarkeit und Linearität der Analysenergebnisse sowie zur Empfindlichkeit des entwickelten Systems in den Betriebsmodi HS-MS und HS-GC-MS durchgeführt. Als Ergebnis läßt sich festhalten, daß die Richtigkeit und die geforderte Präzision der Analysenergebnisse unter den vorliegenden gerätetechnischen Gegebenheiten gewährleistet ist.

V Entwicklung einer Strategie zur Untersuchung komplexer Stoffgemische mit dem MS-Sensor

1. Klassische Strategien beim Einsatz herkömmlicher Chemosensoren

Multi-Sensor-Arrays werden i. a. dazu benutzt, um Proben mit unterschiedlichen Eigenschaften als solche zu erkennen und unbekannte Proben verlässlich zu klassifizieren. Daher muß in einem ersten Schritt ermittelt werden, worauf die Verschiedenheit der vorliegenden Proben beruht. Um die Zusammensetzung der vorliegenden Proben zu ermitteln, bedient man sich klassischer Analyseverfahren, wie z. B. der zeitaufgelösten Gaschromatographie, die mit geeigneten Techniken der Probenvorbereitung kombiniert werden. Anschließend erfolgt die Ermittlung der für die charakteristischen Eigenschaften der Proben verantwortlichen Verbindungen. Speziell bei der Untersuchung von Lebensmitteln werden die wertgebenden Aromastoffe mit Verfahren wie Sniffing-GC-FID, Sniffing-GC-MS, Aromaextraktverdünnungsanalyse etc. ermittelt. Zuletzt wird die Zusammensetzung des Probenaliquots ermittelt, der bei den vorgegebenen Meßbedingungen über das Probenaufgabesystem des Chemosensorsystems zur Messung gelangt. Im Falle der Probenaufgabe mittels statischer Headspace-Technik bedeutet dies, das Kopfraumgas in qualitativer und quantitativer Hinsicht zu charakterisieren. Dies ist notwendig, da bei einer Sensormessung der Probenaliquot nicht in seine Bestandteile aufgetrennt wird, sondern vielmehr die komplexe Mischung der flüchtigen Inhaltsstoffe als Ganzes zur Entstehung des Signalmusters führt.

Nur wenn die jeweilige Zusammensetzung der Probenaliquote signifikant unterschiedlich ist und diese Unterschiede für die unterschiedlichen Eigenschaften der Proben verantwortlich sind bzw. mit den jeweiligen Eigenschaften korreliert werden können, ist der Einsatz eines Chemosensors sinnvoll. Die Klassifizierung unbekannter Proben oder die Kontrolle der Produktkonstanz mit Hilfe des Chemosensorsystems kann nun erfolgen.

2. Neue Strategien beim Einsatz des MS-Sensors

2.1 Voraussetzungen für die Entwicklung

Das Kernstück herkömmlicher Sensorsysteme besteht aus einer Anordnung nicht- oder wenig selektiver Einzelsensoren. Das bei einer Messung erhaltene Signalmuster ist daher als Ergebnis der physikochemischen Wechselwirkung aller im Dampfraum über der Probe befindlichen Verbindungen zu begreifen. Erst durch die anschließend vorgenommene Zuordnung von Probeneigenschaft und Signalmuster wird das vorliegende Trennproblem definiert und die Anwendbarkeit des Sensorsystems zur Lösung dieses Trennproblems festgelegt.

Die Unterscheidung zweier oder mehrerer unterschiedlicher Proben auf der Basis einer charakteristischen Probeneigenschaft kann jedoch nur in den folgenden beiden Fällen gelingen: Im ersten Fall sind die für genau diese charakteristische Probeneigenschaft verantwortlichen Inhaltsstoffe für das Zustandekommen des Signalmusters verantwortlich. Bei einer Headspace-Probenaufgabe bedeutet dies beispielsweise, daß diese Inhaltsstoffe Hauptkomponenten im Dampfraum über der Probe sein müssen. Im zweiten Fall sind diese Inhaltsstoffe der Messung zwar nicht zugänglich, sie stehen jedoch in direkter Korrelation mit denjenigen Verbindungen, die für das Aussehen des Signalmusters verantwortlich sind. In der hier vorliegenden Situation liegen die angesprochenen Inhaltsstoffe in so geringen Konzentrationen im Headspace vor, daß sie keinen Beitrag zu den Sensorsignalen liefern, ihre Zu- oder Abnahme jedoch anhand der Veränderung der Konzentration der Hauptkomponenten verfolgt werden kann. Dies ist insofern problematisch, als ein ursächlicher und eindeutiger Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein der für charakteristische Probeneigenschaften verantwortlichen Nebenkomponten und der Konzentration bestimmter Hauptinhaltsstoffe im Headspace über der Probe vorliegen muß, um das vorliegende Klassifikationsproblem erfolgreich lösen zu können. In vielen Anwendungsbereichen besteht ein derartiger Zusammenhang überhaupt nicht oder ist nur unter großem apparativem und zeitlichen Aufwand zu ermitteln, was den Einsatz von Sensorsystemen in diesen Bereichen ökonomisch wenig sinnvoll erscheinen läßt.

Vor allem in der Nahrungsmittelindustrie sollte die Anwendbarkeit herkömmlicher Sensorsysteme deshalb besonders kritisch betrachtet werden. Sowohl Naturstoffe

als auch verarbeitete Lebensmittel stellen äußerst komplexe Probenmaterialien dar. Auf deren Zusammensetzung wird im Verlauf der Herstellung und Verarbeitung in vielerlei Hinsicht in bekannter und unbekannter Weise Einfluß genommen, so daß die oben beschriebene Korrelation zwischen einer betrachteten Probeneigenschaft, z. B. dem Geruch einer Probe, und deren Hauptinhaltsstoffen in vielen Fällen als eher zufällig zu betrachten ist und nicht als Grundlage für die Diskriminierung der vorliegenden Proben herangezogen werden darf.

In Kenntnis dieser Unzulänglichkeiten wurde bei der Anwendung des MS-Sensors eine neue Strategie zur Ausarbeitung maßgeschneiderter Meßmethoden entwickelt und angewendet. Sie stellt sicher, daß die Lösung des vorliegenden Trennproblems auch tatsächlich auf der Basis der jeweils charakterischen Probeneigenschaften beruht.

2.2 Vorgehensweise

Im folgenden werden die Schritte, die im Rahmen der Methodenentwicklung für den Einsatz des MS-Sensors zu verfolgen sind, zunächst allgemein beschrieben. Diese Vorgehensweise wird im nachstehenden Schema V.1 zusammenfassend wiedergegeben.

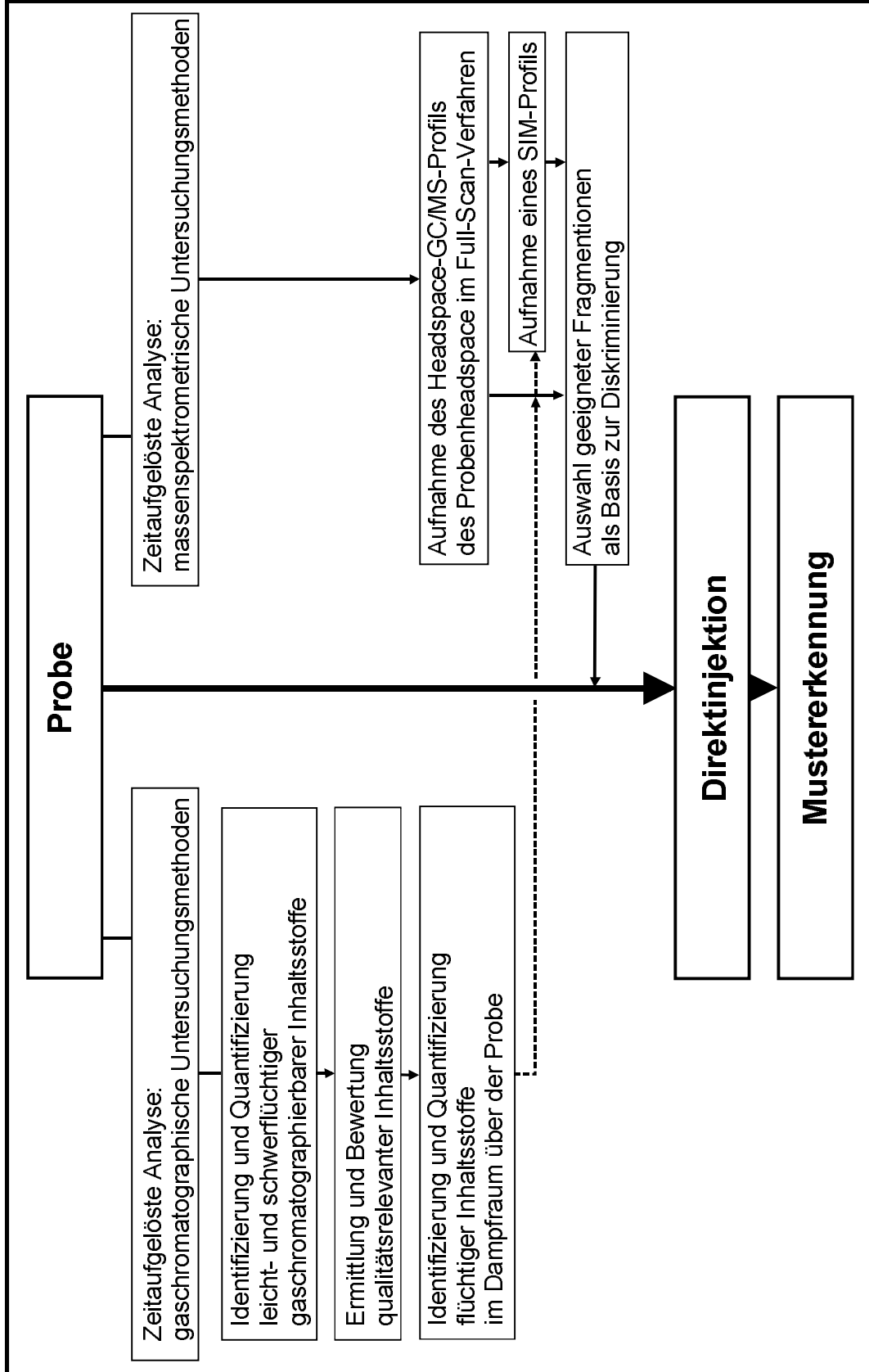


Abb. V.1: Vorgehensweise bei der Entwicklung einer Meßmethode für den MS-Sensor

Ähnlich wie bei der unter Punkt V.1 beschriebenen Strategie zur Lösung von Trennproblemen mit herkömmlichen Sensorsystemen bestand der erste Schritt der Methodenentwicklung darin, das zu lösende Trennproblem mit Methoden der instrumentellen Analytik zu charakterisieren. Während dieser Arbeitsschritt für den Einsatz konventioneller Systeme in praxi nicht notwendig ist und daher oft nicht durchgeführt wird, konnte bei der Entwicklung einer Methode zum Einsatz des MS-Sensors nicht darauf verzichtet werden.

Zunächst wurden also alle gaschromatographierbaren Inhaltsstoffe der Probe identifiziert und quantifiziert. Durch Wahl geeigneter Probenvorbereitungsverfahren sollten dabei neben den leicht- und mittelflüchtigen Verbindungen auch schwerflüchtige Substanzen erfaßt werden, um die Proben möglichst vollständig zu charakterisieren. Hieran schloß sich die Aufklärung und Bewertung der qualitätsrelevanten Inhaltsstoffe an.

Um zu ermitteln, ob und in welchen Konzentrationen diese unter den Bedingungen der Sensormessung im Headspace vorhanden waren, wurde dessen Zusammensetzung mittels Headspace-GC-FID untersucht. Eine eventuell durch die Thermostatisierung hervorgerufene Umwandlung von Inhaltsstoffen und andere Artefaktbildungen konnte durch den Vergleich der Headspace-Zusammensetzung mit dem im ersten Schritt ermittelten Gesamtprofil zuverlässig erkannt und im folgenden berücksichtigt werden.

Neben den zeitaufgelösten, gaschromatographischen Untersuchungen wurden zeitaufgelöste, massenspektrometrische Untersuchungen durchgeführt. Die Aufnahme des Headspace-GC-MS-Profiles im Full-Scan-Verfahren stellte die Ausgangsbasis für die nun folgenden Überlegungen und die durchzuführenden Arbeitsschritte dar.

Ziel der im folgenden durchgeführten Maßnahmen und Überlegungen war es, aus dem Massenspektrum jeder als probentypisch erachteten Verbindung eine festgelegte Zahl charakteristischer Fragmentationen auszuwählen. Diese Fragmentationen stellten den Sensorarray dar, der zur Lösung des Trennproblems verwendet werden sollte. Bei den als probentypisch erachteten Verbindungen konnte es sich, je nach vorgegebener Problemstellung, sowohl um aromarelevante Verbindungen als auch um sensorisch nicht aktive, typische Inhaltsstoffe handeln.

Die verwendeten Fragmentationen mußten folgende Bedingungen erfüllen: Die Signalthöhe bzw. Signalfläche jedes dieser Fragmentationen in den Massenspektren der als

probentypisch erachteten Verbindungen sollte groß gegenüber der Intensität sein, die diese Fragmentation in den Massenspektren anderer Inhaltsstoffe besitzt. Im Idealfall war die Intensität der für den Sensorarray gewählten Fragmentationen in allen außer den probentypischen Verbindungen gleich Null.

Grundsätzlich wird man bei der Auswertung des HS-GC-MS-Profiles unter Berücksichtigung der obigen Ausführungen auf eine der beiden folgenden Situationen treffen:

1. Bereits im Full-Scan-Modus ist eine ausreichende Zahl intensitätsstarker typischer Fragmentationen vorhanden, die sich zur Bildung eines Sensorarrays eignen. In diesem Fall kann die Methodenentwicklung abgeschlossen werden. Sensormessungen sind Direktinjektionen im Full-Scan-Modus. Die im Rahmen der Mustererkennung zu verwendenden Intensitäten der ausgewählten Fragmentationen werden aus dem erhaltenen Gesamtspektrum ausgelesen und mittels multivariater Datenanalyse ausgewertet.
2. Die Intensitäten der charakteristischen Fragmentationen sind im Full-Scan-Modus nicht ausreichend. In diesem Falle ist die Aufnahme eines SIM-Profiles notwendig. Ist dabei eine ausreichende Zahl intensitätsstarker typischer Fragmentationen vorhanden, die sich zur Bildung eines Sensorarrays eignen, kann auch hier die Methodenentwicklung abgeschlossen werden. Sensormessungen sind in diesem Fall Direktinjektionen im SIM-Modus. Die im Rahmen der Mustererkennung zu verwendenden Intensitäten der ausgewählten Fragmentationen werden aus dem erhaltenen SIM-Spektrum ausgelesen und mittels multivariater Datenanalyse ausgewertet.

2.3 Signalauswertung und Mustererkennung

Die Stoffklassifikation auf Basis massenspektrometrischer Signalmuster erfolgte unter Verwendung eines Programmpakets bestehend aus den Programmen MSS2QMB und QMBSOFT NT der Firma HKR Sensorsysteme GmbH, München. Letzteres ist ein kommerziell erhältliches Programm und wird zusammen mit dem Chemosensorsystem QMB 6 von der Firma HKR Sensorsysteme zur Meßwertauswertung und Analysesteuerung vertrieben. Das erstere wurde im Rahmen dieses Projekts von der Firma HKR entwickelt und zur Verfügung gestellt. Es diente dazu, die im Rahmen der vorliegenden Arbeit ermittelten massenspektrometrischen Meßdaten aus den Meßdateien auszulesen und ihnen ein Format zuzuweisen, das ihre Auswertung mittels Mustererkennungsanalyse im Programm QMBSOFT NT ermöglicht.

Mit Hilfe des Konvertierungsprogramms MSS2QMB wurde der grundlegende erste Schritt einer Stoffklassifikation mittels Multi-Sensor-Arrays, die Merkmalsextraktion, durchgeführt. Aus den ursprünglichen Signalwerten der Sensoren, d. h. den im Verlauf der Injektion des unaufgetrennten Probenheadspaces aufgezeichneten Intensitätswerten jedes Fragmentions, wurden stoffspezifische Merkmale gewonnen. Dies wurde erreicht, indem innerhalb eines vorgewählten Zeitabschnitts Δt (Abb. V.2) für jedes Fragmention dessen Intensitätswerte aus dem Meßfile ausgelesen und daraus anschließend das arithmetische Mittel gebildet wurde.

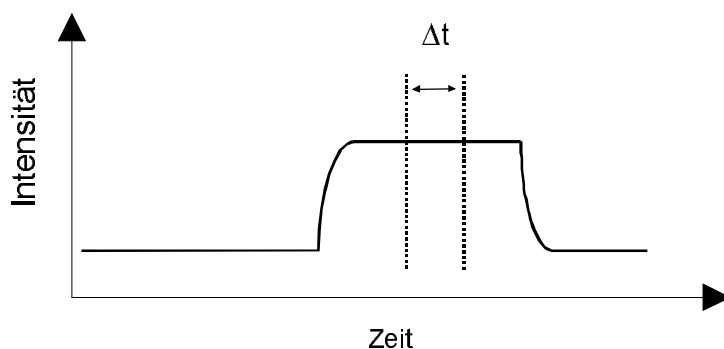


Abb. V.2: Sensorsignal und Zeitabschnitt Δt für Merkmalsextraktion

Die Mittelwertbildung ist gleichbedeutend mit der Transformation der Signalvektoren in Merkmalsvektoren. Die Merkmalsvektoren von Proben, die einer gemeinsamen

Kategorie angehören, legen auch eine gemeinsame Klasse fest. Die Klassen besitzen, wie bereits in Kap. II.2.2 erwähnt, Matrixstruktur und wurde in einer gemeinsamen Datei (Klassendatei) festgeschrieben.

Abbildung V.3 zeigt eine solche Klassendatei. Neben der Bezeichnung der Klasse (mix1.cla) werden die als Sensoren verwendeten Fragmentationen, deren gemittelte Intensitätswerte und die Scans des Mittelungszeitraums festgehalten. Ebenso werden der Zeitpunkt, zu dem die Klassendatei erstellt wird, sowie die Meßdateien, aus denen die MS-Daten ausgelesen wurden, festgehalten.

```
mix1.cla
Zeilen 3
Spalten 4
Bemerkungen 5
HKR Sensorsysteme GmbH, Klassenfile V3.00
Massenzahlen:121/70/83
Datum : 11.01.99 Zeit : 13:10:10
Bem :
Massenspektrometer

2401  114452  40275  Gemittelte Scans: 4, 5, 6; c:\Messung 1.TXT 1
2299  129745  46682  Gemittelte Scans: 4, 5, 6; c:\Messung 2.TXT 1
2646  112841  39522  Gemittelte Scans: 4, 5, 6; c:\Messung 3.TXT 1
```

Abb. V.3 Klassendatei

Die Matrizen der Klassendaten bildeten die Grundlage der im Programm QMBSOft NT durchgeführten Hauptkomponentenanalyse. Sie umfaßt eine zweistufige Hauptachsentransformation, an deren Beginn die Ermittlung einer mittleren Kovarianzmatrix [Horner und Mülller, 1989; Ruske, 1988] steht. In dieser sog. Interklassenmatrix sind die Klassenstreuungen um den Mittelwert zusammengefaßt, durch eine lineare Abbildung wird sie in die Einheitsmatrix überführt. Die verwendete Abbildungsmatrix B wird aus den Eigenvektoren und Eigenwerten der Interklassenmatrix berechnet [Niebling, 1996]. Auf diese Weise werden Merkmalsräume mit ausgeprägten richtungsabhängigen Streuungen der Klassen in homogene Merkmalsräume überführt. Dies ist notwendig, da der Abstand der Klassenmittelpunkte nur unter Berücksichtigung der Klassenstreuungen ein aussagekräftiges Maß für die Trennbarkeit

der Klassen ist. Sollen probenspezifische Merkmale gewonnen werden, die invariant gegenüber den Analytkonzentrationen sind, werden die gemittelten Intensitätswerte mittels Division durch die Summe der Mittelwerte einer Klasse normiert.

Anschließend wird die Hauptachsentransformation mit den nach $\mu^* = \mu \cdot B$ modifizierten Klassenmittelpunkte durchgeführt. Man erhält die gemäß ihres Informationsgehaltes sortierten transformierten Merkmalsvektoren. Bei normalverteilten Merkmalsvektoren enthalten bei n Stoffklassen die ersten $n-1$ Merkmalsvektoren die vollständige Information, die auch im gesamten Datensatz enthalten sind [Horner und Müller, 1989]. Mit den Komponenten auf der ersten Hauptachse wird die beste Trennung erreicht.

Die Zuordnung eines unbekanntes Musters zu bekannten Klassen erfolgt anhand der Ermittlung der Mahalanobisdistanz. Wie bereits erwähnt handelt es sich dabei um ein Distanzmaß, bei dem zur Bestimmung der Klassifikationsgrenzen die Streuung der einzelnen Klassen berücksichtigt wird.

2.4 Validierung der Strategie am Zweikomponenten-Modellsystem

Im folgenden wird die Tauglichkeit der Strategie am Zweikomponenten-Modellsystem 1-Decen/Limonen demonstriert. Dazu wurden vier binäre Mischungen aus 1-Decen und Limonen in unterschiedlichen Mischungsverhältnissen hergestellt (Tab. V.1).

Tab. V.1: Zusammensetzung binärer Mischungen aus 1-Decen und Limonen (Gewichtsprozente)

Mischung Nr.	1-Decen	Limonen
1	79,9	20,1
2	49,1	50,9
3	36,9	63,1
4	20,0	80,0

Die physikalisch-chemischen Eigenschaften beider Verbindungen sind in Tabelle V.2 aufgeführt.

Tab. V.2: Physikalisch-chemische Eigenschaften von 1-Decen und Limonen

Verbindung	M _r (g/mol)	Dampfdruck bei T= 60 °C (mbar)
1-Decen	140,29	17,96
Limonen	136,24	15,43

Zur Durchführung der HS-GC-FID- als auch der Sensor-MS-Messungen wurden in einem Probenfläschchen 24 mg der flüssigen Mischung auf 0,5 g wasserfreies Kieselgel (3 Stunden bei 350 °C ausgeglüht) aufgebracht. Anschließend wurde das Probenfläschchen 30 min bei einer Frequenz von 90 min⁻¹ geschüttelt, um die Substanzen gleichmässig auf die Matrix aufzubringen. Mit 24 mg war die vorgelegte Substanzmenge so gewählt, daß die Konzentration von 1-Decen und Limonen in der Gasphase bei einer Thermostatisierung von 15 min bei 60 °C für eine Direktinjektion im Full-Scan-Modus im Scan-Bereich 45-250 amu ausreichte.

2.4.1 Bestimmung der Headspacezusammensetzung

Die mittels HS-GC-FID jeweils ermittelte Zusammensetzung des Dampfraums ist in nachstehender Tabelle V.3 aufgeführt.

Tab. V.3: Zusammensetzung des Kopfraumgases der binärer Mischungen 1-Decen/Limonen

Mischung Nr.	1-Decen	Limonen
1	92,4 ± 0,35	7,6 ± 0,35
2	65,3 ± 0,47	34,7 ± 0,47
3	50,5 ± 0,12	49,5 ± 0,12
4	35,5 ± 0,42	64,5 ± 0,42

2.4.2 Auswahl des Sensorarrays

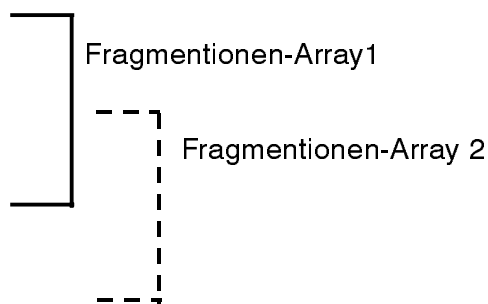
Es wurden zwei Sets von jeweils vier Fragmentationen ausgewählt, welche zur Diskriminierung der binären Mischungen herangezogen wurden.

Auswahl 1 enthielt die Fragmentationen m/z 68, m/z 69, m/z 70 und m/z 93. Neben dem für 1-Decen typischen Fragmentation m/z 70 war mit m/z 93 ein für Limonen charakteristisches Fragmentation vertreten. Darüberhinaus waren m/z 68 und m/z 69 enthalten, welche in den Massenspektren beider Reinsubstanzen mit einer relativen Intensität von ca. 10 % vorkommen.

Auswahl 2 umfaßte die Fragmentationen m/z 70, m/z 83, m/z 93 und m/z 121. Damit bestand das Array aus zwei Fragmentierungsprodukten von 1-Decen (m/z 70 und m/z 83), welche im Spektrum von Limonen nur vernachlässigbar kleine Intensität besitzen. Die Ionen m/z 93 und m/z 121 sind typische Limonen-Fragmente, die mit Intensitäten $<0,5\%$ im Spektrum von 1-Decen vorkommen (Tab. V.4)

Tab. V.4: Prozentualer Anteil der Fragmentationen in den Massenspektren von 1-Decen und Limonen: Fragmentationen der Auswahl 1 sind grau unterlegt, Fragmentationen der Auswahl 2 sind fett gedruckt

m/z	1-Decen	Limonen
68	10,0	100,0
69	52,5	9,1
70	69,1	0,3
93	-	60,3
83	37,8	0,1
121	-	20,4



2.4.3 Sensormessungen und Mustererkennung

Die Signalmuster der normierten Intensitäten, die für die Fragmentationen-Arrays aus m/z 68, m/z 69, m/z 70 und m/z 93 (Array 1) bzw. m/z 70, m/z 83, m/z 93 und m/z 121 (Array 2) aufgezeichnet wurden, sind in Tabelle V.5 bzw. Tabelle V.6 auf-

geführt, die resultierenden Signalmuster sind in Abb. V.5 bzw. Abb. V.7 dargestellt. Die zugehörigen Merkmalsräume finden sich in Abb. V.4 und Abb. V.6.

Die Signalvektoren der binären Mischungen unterschiedlicher Zusammensetzung bilden Gruppen, die im Merkmalsraum räumlich klar voneinander getrennt sind. Dies wird in der graphischen Darstellung der 1. und 2. Hauptkomponente (Abb. V.4 und Abb. V.6) anschaulich. Dies trifft sowohl für das Fragmentationen-Array m/z 68-68-70-93 als auch für das Array m/z 70-83-93-121 zu.

Tab. V.5: Normierte Signalmuster für Fragmentationen-Array m/z 68-69-70-93
%-Anteile, relative Standardabweichung

Mischung Nr.	m/z 68	m/z 69	m/z 70	m/z 93
1	11,9 ± 0,4	37,5 ± 0,8	47,3 ± 0,4	3,4 ± 0,3
2	24,3 ± 1,9	28,6 ± 1,2	35,0 ± 1,5	12,0 ± 0,9
3	35,0 ± 0,7	22,9 ± 0,6	26,2 ± 0,6	15,9 ± 0,5
4	46,1 ± 0,7	15,7 ± 0,6	16,0 ± 0,6	22,3 ± 0,5

Tab. V.6: Normierte Signalmuster für Fragmentationen-Array m/z 70-83-93-121
%-Anteile, relative Standardabweichung

Mischung Nr.	m/z 70	m/z 83	m/z 93	m/z 121
1	69,0 ± 0,7	24,6 ± 0,6	4,9 ± 0,5	1,4 ± 0,1
2	55,0 ± 1,5	20,3 ± 0,6	18,9 ± 1,5	5,8 ± 0,7
3	46,9 ± 0,9	17,2 ± 0,6	28,5 ± 0,3	7,5 ± 0,4
4	31,9 ± 0,8	12,0 ± 0,5	44,4 ± 1,3	11,6 ± 0,5

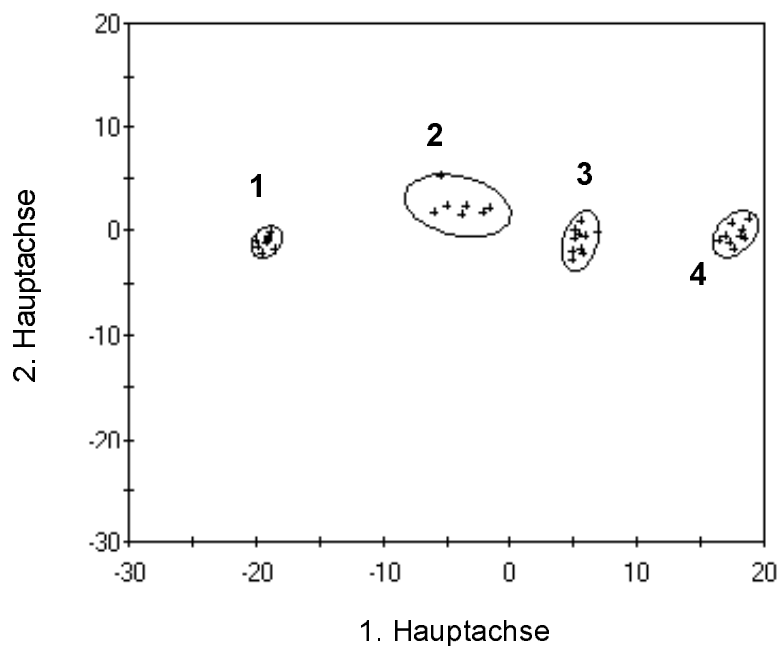


Abb. V.4: Diskriminanzebene für Fragmentionen-Array 1 (m/z 68-69-70-93), binäre Mischungen 1-4

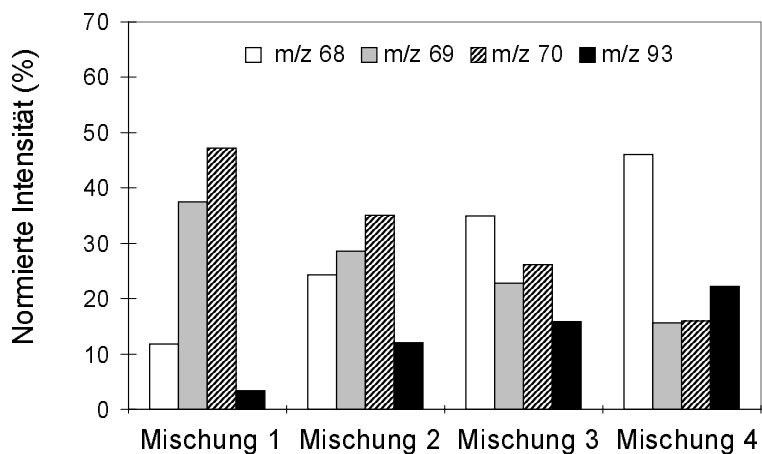


Abb. V.5: Normierte Signalmuster binärer Mischungen 1-Decen/Limonen – Array 1

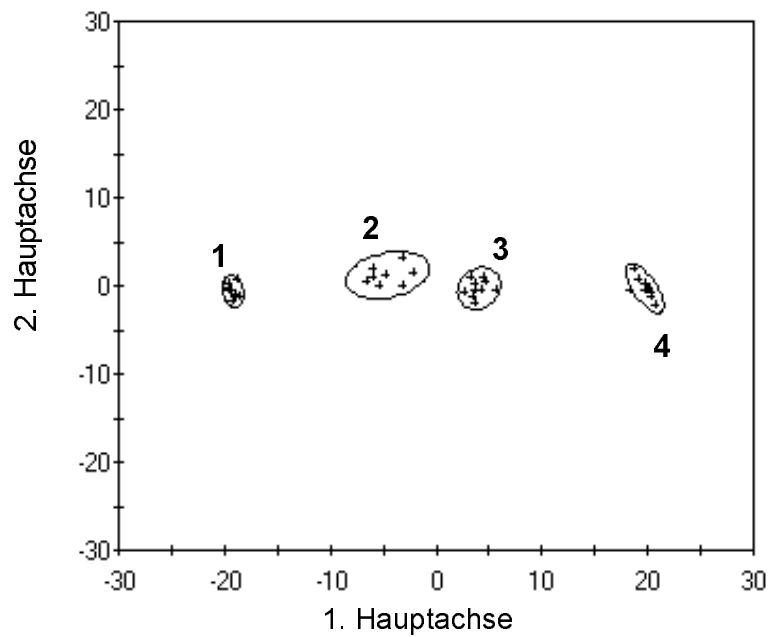


Abb. V.6: Diskriminanzebene für Fragmentationen-Array 2 (m/z 70-83-93-121), binäre Mischungen 1-4

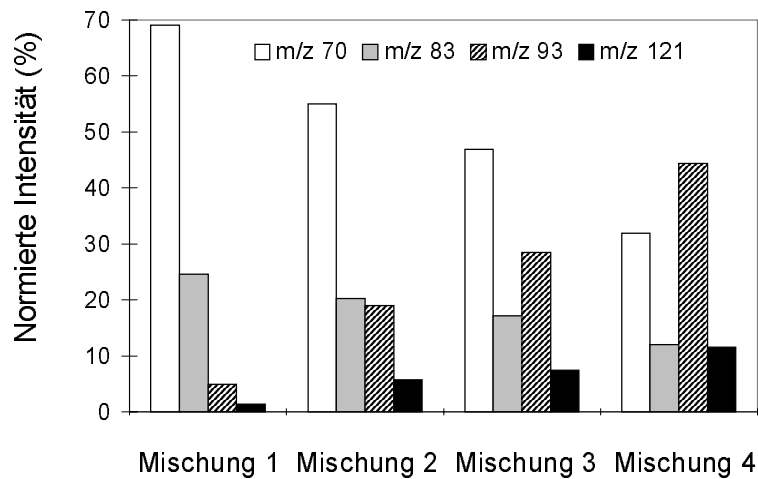


Abb. V.7: Normierte Signalmuster binärer Mischungen 1-Decen/Limonen – Array 2

2.4.4 Rechnerische Herleitung des Signalmusters – Absicherung der Meß- ergebnisse

Tab. V.7: Berechnetes Signalmuster für
Array 1 – m/z 68-69-70-93

Mix	m/z 68	m/z 69	m/z 70	m/z 93
1	12,5	36,6	47,5	3,4
2	28,5	25,9	31,2	14,4
3	36,3	20,6	23,3	19,8
4	43,6	15,7	15,8	24,9

Tab. V.8: Berechnetes Signalmuster für
Array 2 – m/z 70-83-93-121

Mix	m/z 70	m/z 83	m/z 93	m/z 121
1	60,7	33,2	4,4	1,5
2	46,2	25,2	21,4	7,2
3	37,2	20,3	31,7	10,7
4	27,4	14,9	43,1	14,6

Vergleicht man die normierten Intensitäten, die auf Basis der gemessenen Intensitäten berechnet wurden, mit den nach (III.8) berechneten Werten (Tab. V.7 und Tab. V.8), läßt sich Folgendes aussagen:

Bei allen Fragmentationen der Anordnung 1 (m/z 68-69-70-93) zeigten berechnete und gemessene Werte im Rahmen der Standardabweichung gute Übereinstimmung. Mit Ausnahme von Mischung 1 waren die relativen Standardabweichungen der normierten Intensitäten kleiner als 5 %. Die durch Mischung 1 definierte Klasse wies die größte Streuung der Signalhöhen auf.

Bei den Fragmentationen des Arrays 2 (m/z 70-83-93-121) war die Übereinstimmung zwischen den im Experiment ermittelten und den nach (III.8) berechneten Werten deutlich schlechter. Die relativen Standardabweichungen der Intensitäten lagen lediglich bei den Fragmentationen der Mischung 7 unter 5 %, besonders starke Streuung von >8 % zeigten die für Limonen typischen Fragmentationen m/z 93 und m/z 121 für die Mischungen 8 und 1. Die Signalhöhen der durch Mischung 1 definierten Klasse wiesen auch die größte Streuung auf.

Augenfällig sind die hohen Standardabweichungen bei Fragmentationen mit geringer absoluter Meßintensität. Da das meßtechnisch bedingte Rauschen auf allen Massenspuren praktisch gleich groß ist, führt dies bei Fragmentationen kleiner Intensität zu höheren relativen Standardabweichungen als bei intensitätsstarken Fragmentationen. Am deutlichsten ist dieser Effekt bei Mischung 8 für das Limonen-typische Fragmentation m/z 93 zu sehen: Der niedrige Anteil von Limonen im Headspace (7,6 %), zu-

sammen mit einer mäßig hohen relativen Intensität im Massenspektrum der Reinstanz (60 %) führen hier zu einer deutlichen Streuung. Gleiches trifft für die Intensität von m/z 68, dem Basis-Peak im Spektrum von Limonen, zu. Aufgrund der höheren relativen Intensität (100 %) im Limonenspektrum ist die Streuung zwar kleiner als bei m/z 68, jedoch signifikant größer als bei m/z 69 bzw. m/z 70, Fragmentionen aus dem Spektrum der Headspace-Hauptkomponenten 1-Decen.

Dieser Zusammenhang kann als mögliche Erklärung für die schlechte Übereinstimmung zwischen den berechneten und den experimentell ermittelten normierten Intensitätsmustern in Array 2 dienen: Die Intensitäten der beiden hochkorrelierten Limonenfragmente m/z 93 und m/z 121 streuen im Falle niedriger Limonen-Konzentrationen (Mix 8) mit 10,4 % bzw. 8,6 % so stark, daß dies zu einer deutlichen Verschiebung des gesamten Signalmusters führt. Im Falle hoher Limonenkonzentrationen ist die Streuung deutlich geringer, sie beträgt lediglich 3,0 % bzw. 4,6 %. Die mit 8,1 % bzw. 12,2 % starke Streuung der Intensitäten von m/z 93 und m/z 121, die bei einem Anteil von 34,7 % Limonen (Mischung 1) am Headspace zu beobachten war, kann damit allerdings nicht plausibel erklärt werden.

Bezüglich der Qualität der Trennung können geringfügige Unterschiede festgestellt werden. Wie aus den Matrices der Mahalanobisabstände (Tab. V.9 und Tab. V.10) hervorgeht, ist für das Fragmentionen-Array 2 die Entfernung der durch Mischung 4 definierten Klasse zu den Klassen der übrigen Mischungen größer als für das Fragmentionen-Array 1. Gleiches gilt für die durch Mischung 1 definierte Klasse, während die durch Mischung 3 definierte Klasse im Fragmentionen-Array 2 einen geringeren Abstand zu allen übrigen Klassen aufweist als im Fragmentionen-Array 1. Die Qualität der Trennung ist im Fall der Anordnung 2 daher geringfügig besser als im Fall der Anordnung 1.

Tab. V.9: Mahalanobisabstand der Klassenmittelpunkte
Fragmentionen-Array 1 (m/z 68-69-70-93)

	Mischung 1	Mischung 2	Mischung 3	Mischung 4
Mischung 1	-	18,65	34,18	30,34
Mischung 2	5,82	-	17,92	54,86
Mischung 3	12,90	21,57	-	77,13
Mischung 4	10,48	44,47	55,8	-

Tab. V.10: Mahalanobisabstand der Klassenmittelpunkte
Fragmentionen-Array 2 (m/z 70-83-93-121)

	Mischung 1	Mischung 2	Mischung 3	Mischung 4
Mischung 1	-	11,50	45,14	37,21
Mischung 2	6,12	-	29,87	58,69
Mischung 3	16,80	19,80	-	98,31
Mischung 4	9,10	28,34	74,29	-

2.4.5 Zusammenfassung

Der Dampfraum über vier binären Mischungen aus 1-Decen und Limonen in unterschiedlichen Mischungsverhältnissen wurde jeweils ohne Trennung ins Massenspektrometer überführt. Aus dem Full-Scan-Massenspektrum wurden die Intensitäten der Fragmentionen m/z 68, m/z 69, m/z 70, m/z 83, m/z 93 und m/z 121 ausgewählt. Über die beiden Kombinationen der Ionen m/z 68, m/z 69, m/z 70, m/z 83 und m/z 70, m/z 83, m/z 93, m/z 121 wurde eine jeweils vierdimensionale Anordnung definiert. Die Signalintensitäten dieser jeweils vier Fragmentionen bildeten Signalmuster, welche charakteristisch für die Zusammensetzung der Mischungen waren. Mit Hilfe der Hauptkomponentenanalyse wurden die binären Mischungen als Datengruppen auf einer Diskriminanzebene dargestellt. Die Gruppen unterschiedlicher Mischungen stellten sich auf der Diskriminanzebene als räumlich separierte Bereiche (Ellipsen) dar. Wurden der Diskriminanzanalyse die normierten Intensitäten der Fragmentionen zugrundegelegt, eigneten sich die beiden Fragmentionen-Arrays m/z 68-69-70-93 und m/z 70-83-93-121 in gleicher Weise zur Identifizierung der untersuchten Mischungen.

VI Einsatz des MS-Sensors zur Untersuchung von Lebensmitteln und Lebensmittelbedarfsgegenständen

1. Nachweis des Fettverderbs

1.1 Einleitung

Speisefette bestehen zum überwiegenden Teil aus Triacylglyceriden mit zum Teil erheblichen Unterschieden in der Fettsäurezusammensetzung. Der Gehalt an Begleitstoffen wie Acyllipiden (Phospho- und Glykolipide) und Bestandteilen des Unverseifbaren (Kohlenwasserstoffe, Sterine, Tocopherole, Carotinoide) ist kleiner als 3 %. Weist diese Masse bei Raumtemperatur feste oder halbfeste Konsistenz auf, bezeichnet man sie als Fett. Ist sie flüssig, spricht man von einem Öl. In bezug auf die Herkunft unterscheidet man zwischen tierischen Fetten (Rindertalg, Hammeltalg, Schweineschmalz, Gänseschmalz, Seetieröle) und pflanzlichen Fetten. Hier sind neben einer Vielzahl von Samenfetten (u. a. Sonnenblumen-, Maiskeim-, Soja-, Erdnuß-, Walnuß-, Raps-, Sesam-, Saflor-, Lein- und Kürbiskernöl, Kokos-, Palmkern- und Babassufett sowie Kakaobutter) auch Fruchtfleischfette wie Oliven- und Palmöl von großer wirtschaftlicher Bedeutung. Die Weltfetterzeugung pflanzlicher Fette betrug bereits im Jahr 1990 ca. 70 Millionen Tonnen [Belitz und Grosch, 1992a].

Während der Gewinnung und Verarbeitung, hauptsächlich jedoch im Verlauf der Lagerung finden in Speisefetten Veränderungen statt, die die sensorische Qualität dieses Lebensmittels beeinflussen. Die enzymatische Spaltung von Triacylglyceriden durch Lipasen führt zur Freisetzung von aromawirksamen Fettsäuren. Bei der Lipidperoxidation (Autoxidation und Lipoxigenase-Katalyse) werden die am Aufbau der Triacylglyceride beteiligten ungesättigten Fettsäuren zunächst zu Hydroperoxiden oxidiert. Beim Zerfall der instabilen Monohydroperoxide entsteht eine Vielzahl flüchtiger Sekundärprodukte, welche in zahlreichen Untersuchungen bereits identifiziert und quantifiziert wurden [Badings, 1970; Forss, 1973; Frankel, 1980; Grosch, 1982; Grosch, 1986].

Unter den gebildeten flüchtigen Oxidationsprodukten befinden sich viele Neben- und Spurenkomponenten, die aufgrund ihrer niedrigen Geruchs- und Geschmacksschwelle als Hauptursache für die im Verlauf der Autoxidation von Linolsäure auftretenden, vom Verbraucher negativ bewerteten Aromaveränderungen angesehen

werden [Badings, 1970; Grosch, 1986; Meijboom und Jongenotter, 1981; Hall und Andersson, 1983a; Dixon und Hammond, 1984]. Außerdem wird eine geringe Zahl von Hauptkomponenten wie Pentan, Pentanal, Hexanal, 2-Z-Octenal und 2-E-Nonenal gebildet (Tab. VI.1). Obwohl diese Verbindungen vergleichsweise hohe Geruchs- und Geschmacksschwellen-Werte besitzen, sollen Hexanal, 2-Z-Octenal und 2-E-Nonenal aufgrund ihrer hohen D-Werte vor allem in einem frühen Stadium der Lipidperoxidation am Auftreten von Aromadefekten beteiligt sein [Ullrich und Grosch, 1987]. Die Hauptkomponente Pentan ist hier weder geruchs- noch geschmacksaktiv, sie kann jedoch als Indikator für fortschreitende Lipidperoxidation herangezogen werden.

Analytische Verfahren, mit deren Hilfe der Oxidationszustand eines pflanzlichen Öls auf Grundlage des Vorhandenseins bzw. der Konzentration der stärksten Geruchsstoffe bewertet werden soll, sind umständlich und zeitaufwendig. Da diese Verbindungen nur in sehr niedrigen Konzentrationen vorliegen, müssen sie nach ihrer Extraktion angereichert werden, was die Anwendung von z. B. Säulenchromatographie oder Mikrodestillation notwendig macht [Ullrich und Grosch, 1987; Guth und Grosch, 1990]. Da sie außerdem sehr niedrige Gas/Öl-Verteilungskoeffizienten aufweisen [Hall und Andersson, 1983b], ist die Verwendung der statischen Headspace-Technik nicht sinnvoll.

Stattdessen wurde die Verwendung von Pentan, Pentanal und Hexanal als Indikatoren für den Oxidationszustand pflanzlicher Öle vorgeschlagen [Scholz und Ptak, 1966; Evans et al., 1969; Dupuy et al., 1977; Warner et al., 1978]. Obwohl diese Verbindungen nicht ursächlich für das Zustandekommen des ranzigen Aromadefekts verantwortlich sind, verläuft ihre Bildung parallel zur Entstehung der Verbindungen, die dafür verantwortlich gemacht werden. Da diese nicht aromawirksamen Inhaltsstoffe außerdem in Konzentrationen vorliegen, die die Verwendung der statischen Headspace-Technik ermöglichen, eignen sie sich als Grundlage zur Entwicklung eines Screening-Verfahrens, um den Oxidationszustand von Speiseölen mit Hilfe des MS-Sensors zu beurteilen.

Tab. VI.1: Eigenschaften der während der Autoxidation ungesättigter Fettsäuren gebildeten Hauptprodukte^d

Fettsäure	Autoxidations- produkt ^d	Konzentration ^a ($\mu\text{g/g}$ oxidierte FS)	Geruchs- schwellenwert nasal in Pflanzenöl ^a ($\mu\text{g/kg}$)	Geruchs- schwellenwert retronasal in Pflanzenöl ^a ($\mu\text{g/kg}$)	Geruchs- schwellenwert in Luft ^b (ng/l)	Gas/Speiseöl- Verteilungs- koeffizient ^c bei 20 °C
Ölsäure	Nonanal	370	13500	260	4,5-12,1	$8,3 \cdot 10^{-06}$
18:1	Octanal	320	320	50	5,8-13,6	$2,6 \cdot 10^{-05}$
Linolsäure	Pentan ^e	+ ^e	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
18:2	Hexanal	5100	320	75	30-53	$1,7 \cdot 10^{-04}$
	2-Z-Octenal	990	-	50	0,9-2,5	n.b.
	2-E-Heptenal	450	14000	400	52,2-250	$4,2 \cdot 10^{-05}$
Linolensäure	2-E-Octenal	420	7000	125	47	$1,4 \cdot 10^{-05}$
	2,4-E,Z-Heptadienal	320	4000	50	n.b.	n.b.
	3-Z-Hexenal	90	10000	400	0,09-0,36	n.b.

^a [Beilitz und Grosch, 1992b]^b [Rychlik et al., 1998]^c [Hall und Andersson, 1983b]^d Es sind nur Verbindungen aufgeführt, deren Konzentration größer als $300 \mu\text{g/g}$ oxidierte Fettsäure ist.^e Hauptkomponente, nicht quantifiziert

Dieses Verfahren könnte die in der industriellen Praxis eingesetzten unspezifischen summarischen Tests wie die Bestimmung der Benzidin- [Holm et al., 1967] bzw. der Anisidinzahl [Holm, 1972], die Tests unter Zuhilfenahme der Infrarotspektroskopie [O'Connor, 1956], die Ermittlung der Peroxidzahl [Wheeler, 1932; Gray, 1985a] oder den Thiobarbitursäuretest [Gray, 1985b] ablösen.

1.2 Entwicklung der Meßmethode für den MS-Sensor

Für die Entwicklung einer Sensor-MS-Methode zum Nachweis des Fettverderbs wurden handelsübliches Sonnenblumen- und Walnußöl verwendet. Dabei stand neben Sonnenblumenöl mit handelsüblichem Frischegrad auch ein nicht mehr verkehrsfähiges Produkt zur Verfügung, dessen Mindesthaltbarkeitsdatum zum Untersuchungszeitpunkt bereits 24 Monate überschritten war. Um zu klären, ob mittels der entwickelten Meßmethode sortentypische Veränderungen analytisch erfaßt werden können, wurde Walnußöl in die Studie miteinbezogen. Neben dem frischen Öl wurden auch Ölproben untersucht, die einer 24- sowie 48stündigen thermischen Stresung bei 100 °C unterworfen wurden. Zur Durchführung der Streßversuche wurden 22 ml Headspace-Flaschen mit 6 g Öl beschickt und bei 100 °C 24 h bzw. 48 h im Trockenschrank aufbewahrt. Die nach der Methode von Wheeler (1932) ermittelten Peroxidzahlen (POZ) und die Fettsäurezusammensetzungen der Proben sind in Tab. VI.2 aufgeführt.

Tab. VI.2: Peroxidzahlen und Fettsäurezusammensetzungen der untersuchten Speiseöle

Probe	POZ	ungesättigte Fettsäure		
		Ölsäure 18:1	Linolsäure 18:2	Linolensäure 18:3
I Sonnenblumenöl unbehandelt	0.46	23	63.5	<0.5
II Sonnenblumenöl (MHD 09/96)	2.02	23	63.5	<0.5
III Walnußöl unbehandelt	1.50	16.5	60.5	12
IV Walnußöl Streßlagerung (24 h/100 °C)	2.22	16.5	60.5	12
V Walnußöl Streßlagerung (48 h/100 °C)	1.64	16.5	60.5	12

1.2.1 Bestimmung der Headspacezusammensetzung

Sonnenblumen- und Walnußöl unterscheiden sich deutlich im Gehalt an Ölsäure, Linolsäure und Linolensäure (Tab. VI.2). Die beim Verderb dieser Speiseöle entstehenden flüchtigen Sekundärprodukte sind daher hinsichtlich Art und Konzentration sowohl sortentypisch als auch charakteristisch für bestimmte Stadien der Lipidperoxidation. Die jeweilige Headspacezusammensetzung der untersuchten Speiseöle, ermittelt mittels Headspace-GC-FID, sind in Tabelle VI.3 aufgeführt.

Tab. VI.3: %-Anteile der flüchtigen Inhaltsstoffe im Kopfraum über Sonnenblumen- und Walnußöl in unterschiedlichen Oxidationszuständen

RI ^a	Verbindung	I	II	III	IV	V
500	Pentan	55,15 (<0,1 ppm)	75,70 (0,28 ppm)	21,72 (< 0,1 ppm)	80,34 (7,1 ppm)	90,38 (18,5 ppm)
692	1-Penten-3-ol	-	-	-	1,91	1,12
696	Pentanal	-	3,71	16,69	3,83	1,47
700	Heptan	-	-	14,05	0,57	0,31
800	Hexanal, Oktan	44,85	20,59	32,38	11,30	4,54
856	E-2-Hexenal	-	-	-	0,36	0,20
961	E-2-Heptenal	-	-	15,16	1,69	1,97

I: Sonnenblumenöl, unbehandelt

II: Sonnenblumenöl, MHD 09/96

III: Walnußöl, unbehandelt

IV: Walnußöl, Streßlagerung (24 h/100 °C)

V: Walnußöl, Streßlagerung (48 h/100 °C)

^a Retentionsindizes auf Kapillarsäule DB-5

Im Kopfraum über ranzigem Sonnenblumenöl befanden sich neben Pentan auch Pentanal, Hexanal und Oktan. Der Kopfraum über forciert gealtertem Walnussöl wurde dominiert von Pentan, welches bei der Autoxidation von Linolsäure entstand. Weiterhin waren Hexanal, Pentanal, 2-E-Heptenal, Heptan und E-2-Hexenal in we-

sentlich geringeren Konzentrationen nachweisbar. 1-Penten-3-ol wurde nur in streßgelagertem Walnußöl gefunden.

Alle flüchtigen Verbindungen, die im Headspace nachweisbar waren, konnten als Indikatoren für den Oxidationszustand der Öle herangezogen werden. Daher wurde auf die Aufnahme eines zeitaufgelösten massenspektrometrischen Profils der Probe im SIM-Modus verzichtet.

1.2.2 Auswahl der Fragmentionen für das Sensorarray

Vorauswahl

Die zur Unterscheidung von Speiseölen in unterschiedlichen Oxidationszuständen zunächst verwendete Fragmentionen-Anordnung bestand aus 16 Fragmentionen. Es handelte sich dabei um m/z 50, m/z 51, m/z 53, m/z 55, m/z 56, m/z 57, m/z 58, m/z 67, m/z 69, m/z 70, m/z 72, m/z 81, m/z 82, m/z 83, m/z 84 und m/z 86. Die Intensitäten dieser Fragmentionen wurden während der Direktinjektion des Kopfraumgases im SIM-Verfahren aufgezeichnet. Die Wahl der Fragmentionen erfolgte auf Basis der Massenspektren der in Tab. V.3 aufgeführten Verbindungen. Mit Ausnahme von 1-Penten-3-ol sind sie entweder der Substanzklasse der Aldehyde (gesättigt bzw. einfach ungesättigt) oder der Klasse der Kohlenwasserstoffe (gesättigt, unverzweigt) zuzuordnen.

Die Massenspektren homologer Einzelsubstanzen (Pentan, Heptan, Octan bzw. 2-E-Hexenal, 2-E-Heptenal) einer Substanzklasse weisen im Hinblick auf Art und Intensität der Fragmentionen große Ähnlichkeit auf. Daher wurde bei der Auswahl der Fragmentionen darauf geachtet, verbindungstypische Fragmentionen hoher Intensität in das Array einzubeziehen. Tabelle VI.4 gibt eine Übersicht über die Intensitäten dieser 16 Fragmentionen in den Massenspektren der Headspace-Inhaltsstoffe.

Tab. VI.4: Relative Intensitäten (%) ausgewählter Fragmentionen in den Massenspektren ausgewählter Autoxidationsprodukte

m/z	Pentan	1-Penten-3-ol	Pentanal	Heptan	Hexanal	Okтан	E-2-Hexenal	E-2-Heptenal
50	0,9	1,0	2,0	0,7	0,1	-	2,0	-
51	1,1	1,0	1,9	1,2	0,3	0,2	3,8	3,7
53	1,3	3,5	2,3	2,3	2,5	0,8	9,8	7,8
55	3,4	4,7	5,6	11,9	14,7	7,0	61,0	42,7
56	2,3	1,0	1,9	26,5	81,6	14,0	14,0	32,2
57	13,2	100,0	27,4	47,4	44,1	30,2	47,0	35,5
58	0,5	4,4	31,7	2,1	9,4	1,3	2,0	-
67	-	1,7	1,0	0,3	8,8	0,1	4,1	3,6
69	-	0,6	0,4	0,7	1,6	1,0	57,0	20,8
70	0,1	0,1	0,1	17,8	1,0	9,6	17,0	23,6
72	8,2	0,1	0,1	2,5	19,7	0,9	-	-
81	-	-	-	-	1,4	-	2,5	3,9
82	-	-	-	-	14,1	-	-	-
83	-	0,1	0,1	-	1,5	-	48,0	38,5
84	-	0,1	-	0,2	0,2	4,8	2,7	7,5
86	-	1,6	1,2	0,1	-	1,6	-	-

Einschränkung der Vorauswahl

Um die Zahl der für eine nicht willkürliche Bildung von Objektgruppen notwendigen Kalibrationsmessungen einzuschränken, war eine Reduktion der Dimensionalität des Sensorarrays notwendig. Daher wurden die ermittelten Meßdaten einer Hauptkomponentenanalyse unterzogen und die Ladungswerte aller 16 Fragmentionen ermittelt (Tab. VI.5). Das Sensorarray wurde auf die 5 Fragmentionen mit den höchsten Ladungswerten bezüglich der ersten und zweiten Hauptkomponente eingeschränkt. Das Array, das sich somit ergab, bestand aus den Fragmentionen m/z 55, m/z 56, m/z 57, m/z 58 und m/z 72. Sie sind in Tabelle VI.5 grau unterlegt. Durch die Reduktion der Dimensionalität des Arrays auf diese hochsignifikanten Sensoren entstand kein Verlust an Trennschärfe.

Tab. VI.5 Ladungswerte der Fragmentionen für zwei Hauptkomponenten

m/z	1. Hauptkomponente	2. Hauptkomponente
50	0,088983	-0,334065
51	0,032969	-0,060091
53	0,088983	0,038799
55	0,432598	-0,070198
56	0,303798	-0,155001
57	0,687721	-0,392117
58	0,314010	0,705225
67	0,021941	-0,007527
69	0,026853	-0,008255
70	0,072402	0,020813
72	0,362863	0,364801
81	0,033737	0,002468
82	0,008123	-0,070470
83	0,013069	-0,038973
84	0,003098	-0,234824
86	0,001144	-0,089234

1.2.3 Sensormessungen und Mustererkennung

Für die Diskriminanzanalyse wurden die Intensitäten der Fragmentionen m/z 55, m/z 56, m/z 57, m/z 58 und m/z 72 aus den ermittelten Meßdateien ausgelesen und mittels Hauptkomponentenanalyse ausgewertet. In Tab. VI.6 sind die Intensitäten der Fragmentionen m/z 55, m/z 56, m/z 57, m/z 58 und m/z 72 für die untersuchten Speiseöle einander gegenübergestellt; die normierten Intensitäten dieser Fragmentionen finden sich in Tab. VI.7.

Tab. VI.6: Muster der Intensitäten (Mittelwerte und relative Standardabweichungen)

Probe	m/z 55	m/z 56	m/z 57	m/z 58	m/z 72
I Sonnenblumenöl, unbehandelt	2909 ± 288	5732 ± 417	4121 ± 256	2719 ± 153	1770 ± 115
II Sonnenblumenöl, MHD 09/96	7679 ± 925	13243 ± 2324	10194 ± 1266	9195 ± 2803	5013 ± 512
III Walnußöl, unbehandelt	7679 ± 1493	9588 ± 1286	10499 ± 1349	13343 ± 2032	7668 ± 1094
IV Walnußöl, Streßlagerung (24 h/100 °C)	23369 ± 4902	20160 ± 3791	32903 ± 6957	23069 ± 3571	23982 ± 3461
V Walnußöl, Streßlagerung (48 h/100 °C)	178594 ± 38848	130081 ± 28079	282217 ± 61984	134444 ± 24895	150245 ± 32217

Tab. VI.7: Normiertes Muster der Intensitäten (Mittelwerte und relative Standardabweichungen)

Probe	m/z 55	m/z 56	m/z 57	m/z 58	m/z 72
I Sonnenblumenöl, unbehandelt	16,8 ± 0,9	33,2 ± 0,9	23,9 ± 1,0	15,8 ± 1,5	10,3 ± 0,4
II Sonnenblumenöl, MHD 09/96	16,9 ± 0,3	29,2 ± 1,7	22,7 ± 3,6	20,0 ± 4,0	11,2 ± 2,0
III Walnußöl, unbehandelt	15,7 ± 1,8	19,7 ± 0,7	21,6 ± 0,3	27,3 ± 1,0	15,7 ± 1,0
IV Walnußöl, Streßlagerung (24h /100 °C)	18,9 ± 0,7	16,3 ± 0,6	26,5 ± 1,0	18,8 ± 1,2	19,5 ± 1,1
V Walnußöl, Streßlagerung (48h /100 °C)	20,4 ± 0,1	14,8 ± 0,2	32,2 ± 0,3	15,4 ± 0,4	17,2 ± 0,2

Wie aus den Abbildungen VI.3 und VI.4 hervorgeht, sind die Signalmuster unterschiedlicher Ölsorten sowohl mit als auch ohne Normierung der Signalintensitäten deutlich verschieden, die Cluster der Sonnenblumenöle und der Walnußöle sind im Merkmalsraum deutlich voneinander getrennt (Abb. VI.1 und Abb. VI.2). Die Lagerproben beider Ölsorten lassen sich auf der Diskriminanzebene von den jeweiligen unbehandelten Proben unterscheiden. Bedingt durch die Ähnlichkeit der Muster der normierten Signalintensitäten überschneiden sich allerdings die Cluster der streßgelagerten Walnußproben.

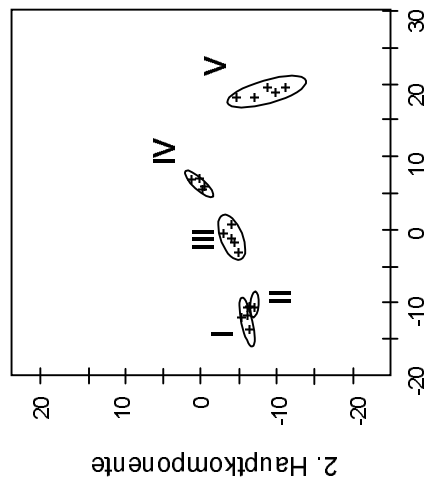


Abb. VI.1: Diskriminanzebene für Array m/z 55-56-57-58-72

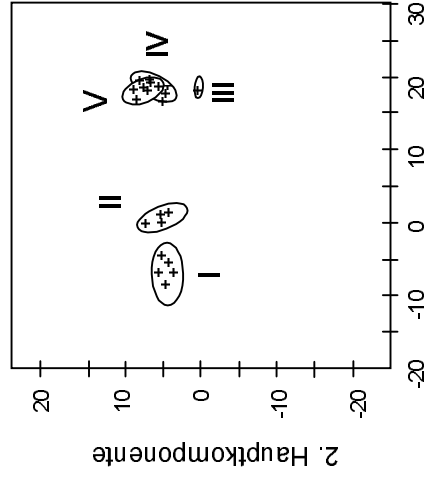


Abb. VI.2: Diskriminanzebene für Array m/z 55-56-57-58-72 (normiert)

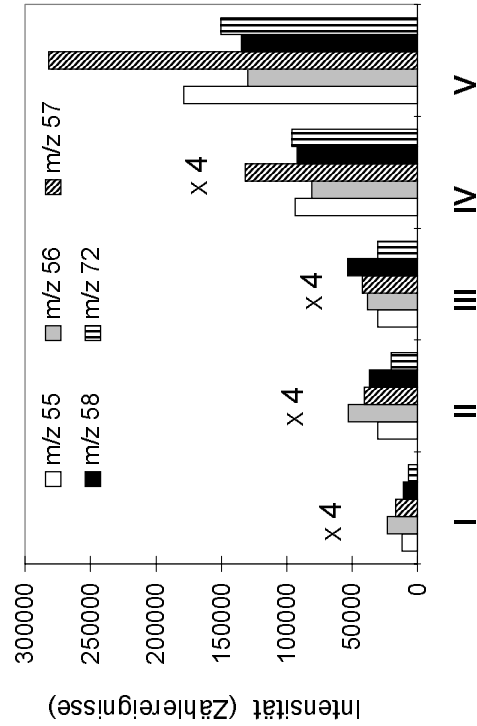


Abb. VI.3: Signalmuster

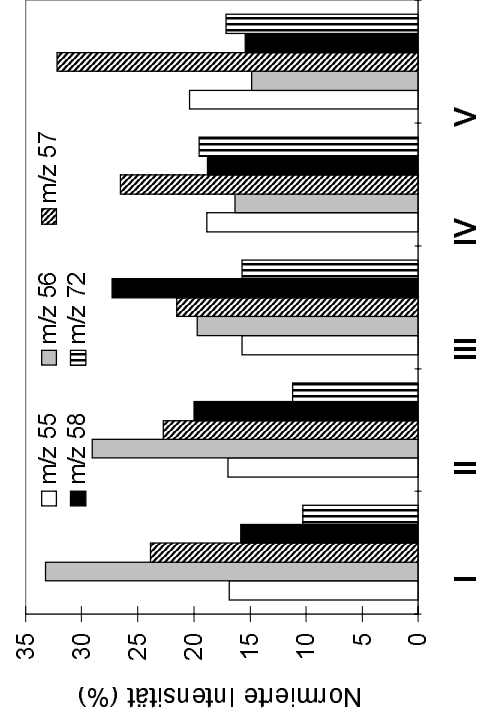


Abb. VI.4: Normiertes Signalmuster

1.3 Diskussion

Die Ergebnisse der hier durchgeführten Untersuchungen zeigen, daß die Differenzierung von Sonnenblumen- und Walnußöl in unterschiedlichen Oxidationszuständen mittels Direktinjektion/Mustererkennung grundsätzlich möglich ist. Mit dem hier verwendeten Fragmentionen-Array aus m/z 55, m/z 56, m/z 57 m/z 58 und m/z 72 erfolgte die Diskriminierung auf der Basis der flüchtigen Inhaltsstoffe Pentan, Pentanal, Hexanal und Heptan.

Pentan entsteht über eine β -Spaltung des 13-Hydroperoxids der Linolsäure (Belitz, 1992b) und ist die dominierende Hauptkomponente des Kopfraumgases in allen untersuchten Proben. Daher hängt das bei einer HS-MS-Messung erhaltene Signalmuster sehr stark von der jeweiligen Pentankonzentration ab. Die Eignung von Pentan als Indikator für den Oxidationszustand eines Öles wurde bereits von Scholz und Ptak (1966), Evans et al. (1969) sowie Dupuy et al. (1977) bei der Direktinjektion von Speiseöl in den Gaschromatographen festgestellt. Neben der Menge an Pentan, das sich während der Autoxidation gebildet hatte, erfaßten diese Autorenguppen allerdings auch Pentan, das sich bei der thermischen Zersetzung der Öle im GC-Injektor bildete. Daher besitzt die von Scholz und Ptak (1966) gefundene quantitative Beziehung von Pentangehalt und sensorischer Qualität keine methodenübergreifende Gültigkeit. Nach der Einteilung von Scholz und Ptak (1966) ist erst Speiseöl mit einem Pentangehalt über 50 ppm ranzig. Somit wären sowohl das Sonnenblumenöl mit MHD 09/96 als auch das thermisch belastete Walnußöl akzeptabel, da der Pentangehalt in allen Proben jeweils unter 50 ppm lag. Tatsächlich wiesen alle Proben einen deutlichen strohigen bis ranzigen Fehlgeruch auf. Daß die Konzentration von Pentan im Kopfraum über ranzigem Öl als Indikator für fortgeschrittene Autoxidation herangezogen werden kann, publizierten erstmals Warner et al. (1978).

Neben Pentan beeinflusst auch der Gehalt von Pentanal und Hexanal das Signalmuster der HS-MS-Analyse. Da gemäß Dupuy et al. (1973) auch diese Verbindungen als Marker für Ranzigkeit herangezogen werden, wird der Vorteil der HS-MS-Methode deutlich. Mit der Erfassung des Signalmusters der Fragmentionen m/z 55, m/z 56, m/z 57 m/z 58 und m/z 72 wird zuverlässig und ausschließlich der Gehalt an Sekundärprodukten der Autoxidation erfaßt, die repräsentativ für das Fortschreiten der Oxidation sind. Im Gegensatz dazu wird bei der Ermittlung der Peroxidzahl der Gehalt an Monohydroperoxiden bestimmt, die sich aufgrund ihres instabilen Cha-

racters nicht zuverlässig als Indikatoren eignen [Gray, 1978]. Zudem wird das Analysergebnis durch das Vorhandensein ungesättigter Fettsäure-Doppelbindungen stark verfälscht. Für Ölsorten mit hohem Anteil ungesättigter Fettsäuren wie Walnuß- oder Leinsamenöl werden daher bereits im frischen Zustand Peroxidzahlen bestimmt, die denen ranziger Maiskeim- oder Sonnenblumenöle entsprechen. Die Unzuverlässigkeit der POV-Methode konnte auch für die hier untersuchten Proben bestätigt werden. Zum einen wurde für frisches Walnußöl ein Peroxidwert von 1,50 ermittelt. Dieser Wert ist deutlich größer als der POV des frischen Sonnenblumenöls (0,46). Zum anderen war die Peroxidzahl der thermisch am stärksten belasteten Walnußölprobe mit 1,64 dem POV des frischen Öls vergleichbar.

Mittels Sensor-Massenspektrometrie in Kombination mit Mustererkennung ist bei beiden untersuchten Ölsorten die eindeutige Unterscheidung der unbehandelten Proben von den Lagerproben möglich. Außerdem ist aufgrund der sortentypischen Verteilung der flüchtigen Inhaltsstoffe im Headspace eine Unterscheidung zwischen Sonnenblumenöl und Walnußöl, unabhängig vom jeweiligen Oxidationszustand, eindeutig möglich. Es zeigt sich allerdings, daß die Signalmuster der streßgelagerten Walnußproben sich so ähnlich sind, daß eine Diskriminierung dieser beiden Proben bei Normierung der Signalvektoren nicht stattfinden kann. Die Ursache hierfür liegt in der sehr ähnlichen qualitativen Zusammensetzung der Kopfraumgase.

Die durchgeführten Untersuchungen wurden ausschließlich mit Speiseölen durchgeführt, die jeweils in einem gasdicht verschlossenen Behältnis thermisch belastet wurden. Ob sich das entwickelte Sensor-MS-Verfahren auch zur Beurteilung der Ranzigkeit von thermisch belasteten Ölen aus offenen Behältern (Friteusen etc.) eignet, sollte durch weiterführende Untersuchungen geprüft werden. Außerdem sollten Möglichkeiten und Grenzen des Verfahrens zur Detektion der Fotooxygenierung aufgezeigt werden.

Der Nachteil der entwickelten Meßmethode besteht darin, daß die Messung auf die Fragmentationen von geruchlich nur wenig aktiven Hauptkomponenten beschränkt ist. Längerkettige einfach- und mehrfach ungesättigte Aldehyde sowie einige ungesättigte C₈-Ketone, welche aufgrund ihrer äußerst niedrigen Geruchsschwellen ursächlich für den ranzigen Aromadefekt verantwortlich sind, können mittels HS-MS bzw. HS-GC-MS nicht erfaßt werden. Ihre Konzentration im Kopfraumgas liegt jeweils un-

terhalb der Nachweisgrenze, die mit einem statischen Headspace-Probenaufgabesystem erreicht werden kann.

Die Ursache für eine derart geringe Headspace-Konzentration ist einerseits darin zu suchen, daß diese Verbindungen während der Autoxidation nur in sehr geringen Mengen gebildet werden. Zum anderen erklärt sie sich aus dem äußerst geringen Gas/Speiseöl-Verteilungskoeffizienten der höherkettigen Autoxidationsprodukte. So besitzt z.B. E,E-2,4-Decadienal mit $2,9 \cdot 10^{-7}$ einen 586-fach kleineren Gas/Speiseöl-Verteilungskoeffizienten als Hexanal mit $1,7 \cdot 10^{-4}$ [Hall und Andersson, 1983b] und wird mit 150 mg/g Linolsäure in 34-fach geringerer Menge gebildet als Hexanal mit 5100 mg/g Linolsäure [Belitz, 1992b]. Um auch diese geruchsaktiven Spurenkomponenten in die Messung miteinzubeziehen, müssten sie vor der Direktinjektion im Probenheadspace angereichert werden. Auf diese Weise könnten auch Fragmentationen hoher Spezifität in den Sensor-Array miteinbezogen werden, auf die hier wegen ihrer sehr geringen Intensität im Spektrum der Headspace-Komponenten verzichtet werden mußte.

2. Lagerungsbedingte Veränderungen bei Gewürznelken

2.1 Einleitung

Gewürznelken sind getrocknete, noch geschlossene Blütenknospen des immergrünen Nelkenbaumes (*Syzygium aromaticum*, Familie Myrtaceae) [Melchior und Kastner, 1974]. Die Weltproduktion liegt bei ca 20 000 Tonnen pro Jahr und stammt zu 75 % von den ostafrikanischen Inseln Sansibar und Pemba [Heath, 1978; Lewis, 1984; Wagner, 1988]. Daneben wird der Gewürznelkenbaum auch auf den Molukken, Madagaskar, Réunion, Mauritius, den Comoren sowie in Indonesien, Malaysia, den Philippinen, in Indien, Sri Lanka, auf einigen der Westindischen Inseln und in Brasilien kultiviert [Melchior und Kastner, 1974; Heath, 1978; Lewis, 1984; Wagner, 1988; Analytical Methods Committee, 1984; Gerhardt, 1990]. Gewürznelken finden im asiatischen Raum hauptsächlich Verwendung bei der Herstellung von Kretek-Zigaretten [Lewis, 1984]. In Europa werden sie als Rohstoffe in der Lebensmittelindustrie, der Parfümerie und der pharmazeutischen Industrie verwendet [Analytical Methods Committee, 1984].

Gewürznelken weisen einen außerordentlich hohen Gehalt an Eugenol auf und besitzen deshalb sowohl antimikrobielle [Müller, 1951; Martinez et al., 1973; Pauli und Knobloch, 1987; Knobloch et al., 1988; Suresh et al., 1992] als auch schmerzlindernde [Wagner, 1988; Müller, 1951] Wirkung. In der Lebensmittelindustrie sind vor allem die sensorischen Eigenschaften von Interesse: „warmer, schwerer, würziger, entfernt pfefferartiger Geruch mit süßlich-fruchtiger Nuance und anhaltendem phenolischem Hintergrund“ [Heath, 1978; Moyler et al., 1988]. Dieser Geruchseindruck wird im wesentlichen von den das Aroma stark prägenden Komponenten Eugenol („Gewürznelke, streng“ [Kollmannsberger und Nitz, 1994]) und Eugenylacetat („nelkenartig-fruchtig“ [Bauer und Garbe, 1981] bzw. „Gewürznelke, süß“ [Kollmannsberger und Nitz, 1994]) bestimmt. Sie allein machen mehr als 85 % der flüchtigen Nelkeninhaltsstoffe aus. Mit einem Anteil von ca. 10 % ist das geruchsaktive Caryophyllen nicht nur mengenmäßig bedeutsam, sondern leistet mit seiner „grünholzigen“ Note auch einen wichtigen Beitrag zum Gesamtaroma [Kollmannsberger und Nitz, 1994]. Außerdem enthalten Gewürznelken eine Reihe leichtflüchtiger geruchsaktiver Nebenkomponenten [Lewis, 1984; Wagner, 1988; Moyler, 1988; Ziegler, 1982; Nirmala und Narayanan, 1992] sowie sensorisch bedeutsame schwerflüchtige Inhalts-

stoffe [Melchior und Kastner, 1974; Heath, 1978; Lewis, 1984; Wagner, 1988; Analytical Methods Committee, 1984; Gerhardt, 1990; Deyama et al., 1971; Walter, 1972; Salzer, 1977; Richard, 1991; Bauer und Garbe, 1981], auf die hier aber nicht näher eingegangen werden soll. Aus der Vielzahl flüchtiger, sensorisch unbedeutender Verbindungen (u. a. Mono- und Sesquiterpene, Methylketone und sekundäre Alkohole [Kollmannsberger und Nitz, 1994]) ist Essigsäuremethylester von besonderer Bedeutung: Koller wies einen lagerungsbedingten Anstieg von Methylacetat nach [1979a], der mit der Veränderung des Geruchs in Richtung stechend bzw. streng einherging. Die Zunahme von Methylacetat wird mit der Hydrolyse von Eugenylacetat und anschließender Veresterung von Essigsäure mit Methanol erklärt [Koller, 1979b], während die Verschlechterung der sensorischen Qualität auf den im ersten Reaktionsschritt stattfindenden Abbau der aromabestimmenden Verbindung Eugenylacetat zurückzuführen ist.

Das im folgenden beschriebene Verfahren zur Detektion lagerungsbedingter Qualitätsminderung in Gewürznelken macht sich die Zunahme der Indikatorverbindung Methylacetat zunutze.

2.2 Entwicklung der Meßmethode für den MS-Sensor

Zur Entwicklung einer Meßmethode für den MS-Sensor, die den Nachweis der lagerungsbedingten Veränderung getrockneter Gewürznelken erlaubt, wurden ganze, getrocknete Gewürznelken fein vermahlen. Das erhaltene Pulver wurde unter Luftatmosphäre in einem Braunglasgefäß mit Schraubverschluß im Kühlschrank (5 °C) 4 Monate gelagert. Die nachstehend beschriebenen Untersuchungen des Gewürzpulvers erfolgten zu Beginn und nach Beendigung der Einlagerung. HS-GC-FID-, HS-GC-MS- und Sensor-MS-Analysen wurden mit jeweils 2 g Nelkenpulver durchgeführt. Die Einstellung des Gas/Matrix-Verteilungsgleichgewichts wurde durch eine 15 minütige Thermostatisierung bei 60 °C erreicht.

2.2.1 Bestimmung der Headspacezusammensetzung

Das Kopfraumgas über den untersuchten vermahlenden Gewürznelken setzte sich aus ca. 40 Verbindungen zusammen. Sie konnten bis auf zwei identifiziert werden. In beiden Proben waren Eugenol und Caryophyllen Hauptkomponenten mit einem gemeinsamen Anteil von mehr als 75 % an der Gesamtpeakfläche, daneben besaßen Essigsäure, Humulen, E,E- α,α -Farnesen, α -Copaen und 2-Heptanon Headspace-Anteile von jeweils >1 %. Jede der übrigen nachgewiesenen Verbindungen lag in so geringer Konzentration vor, daß ihr Anteil am Headspace 1 % nicht überstieg.

Hinsichtlich der qualitativen Zusammensetzung des Kopfraumgases wiesen die originäre Probe und die Lagerprobe keine Unterschiede auf.

In quantitativer Hinsicht konnte sowohl eine lagerungsbedingte Abnahme aller flüchtigen Inhaltsstoffe als auch eine Veränderung der prozentualen Zusammensetzung des Kopfraumgases festgestellt werden. Echte lagerungsbedingte Zunahmen der Konzentration wurden für Methylacetat, Pentan und Aceton beobachtet. Gravierende Abnahmen der Headspacekonzentration wurden für Eugenol und Caryophyllen nachgewiesen. Der höhere Anteil von Caryophyllen im Headspace der Lagerprobe stellte daher keine echte Zunahme der Konzentration dar. Er ergab sich im Zusammenhang mit der Auswertung – Prozent, bezogen auf die Gesamtpeakfläche – aus der stärkeren Abnahme des Anteils der übrigen Komponenten, v. a. Eugenol. Gleiches gilt für den höheren Anteil von Essigsäure im gelagerten Gewürz. Methanol konnte in beiden Proben nachgewiesen werden. Der jeweilige Anteil am Kopfraumgas war jedoch für beide Proben gleich und war kleiner als 0,5 %. Die von Koller (1979a) beschriebene Abnahme des Eugenylacetatanteils, welche mit der Zunahme der Konzentration von Methylacetat einhergeht, konnte hier nicht überprüft werden, da bei den angewendeten Versuchsbedingungen die Konzentration von Eugenylacetat unterhalb der gaschromatographischen Nachweisgrenze liegt. In Tabelle VI.8 ist die quantitative Zusammensetzung unter Beschränkung auf Inhaltsstoffe mit Anteilen >1 % dargestellt. Markante lagerungsbedingte Veränderungen in den Gehalten einzelner Verbindungen sind hervorgehoben.

Tab. VI.8: %-Anteile der flüchtigen Inhaltsstoffe im Kopfraum über frischem und gelagertem Gewürznelkenpulver

RI ^a	Verbindung	frisch	gelagert
500	Aceton	0,92	1,40
500	Pentan	1,05	0,93
530	Methylacetat	0,06	0,67
644	Essigsäure	1,47	6,25
1376	Eugenol	48,30	44,72
1401	α -Copaen	1,01	0,89
1454	β -Caryophyllen	36,67	32,76
1488	Humulen	2,76	2,44
1514	E,E- α , α -Farnesen	1,44	2,81

^a Retentionsindizes auf Kapillarsäule DB-5

2.2.21 Auswahl der Fragmentionen für das Sensor-Array

Das zur Differenzierung der Proben unterschiedlicher Lagerungsdauer verwendete dreidimensionale Array bestand aus den Fragmentionen m/z 74, m/z 91 und m/z 165. Dabei ist m/z 74 ein für Methylacetat charakteristisches Fragmention, während m/z 91 in den Massenspektren von Caryophyllen und einigen Monoterpenkohlenwasserstoffen anwesend ist. Mit m/z 165 enthielt das Array außerdem ein für Eugenol und Caryophyllen typisches Fragmention.

2.2.3 Aufnahme des SIM-Profiles mittels HS-GC-MS

In Tabelle VI.9 ist dargestellt, wie sich die Gesamtpeakfläche der Ionenspuren m/z 74, m/z 91 und m/z 165 bei den untersuchten Nelkenproben zusammensetzt. Die Summe aller im zeitaufgelösten HS-GC-MS-Chromatogramm integrierten Peakflächen entspricht für jedes Fragmention 100 %.

Tab. VI.9: %-Anteile an der Peakflächensumme für m/z 74, m/z 91 und m/z 165 in frischem und gelagertem Gewürznelkenpulver (HS-GC-MS, SIM)^a

	Verbindung	frisch	gelagert
m/z 74	Methylacetat	21,8	89,9
	2-Methylbuttersäureethylester	12,8	2,2
	Hexansäuremethylester	41,7	4,3
	n. i.	5,8	-
	β-Caryophyllen	8,5	-
m/z 91	β-Caryophyllen	88,7	82,0
m/z 165	Eugenol	93,2	91,5
	β-Caryophyllen	4,6	4,0

^a bei m/z 74 und m/z 91 nur Substanzen mit Anteilen über 5 % angegeben

Wie aus Tabelle VI.9 hervorgeht, hat Caryophyllen sowohl im frischen als auch im gelagerten Gewürz einen Anteil von >80 % an der Peakflächensumme des Fragmentions m/z 91. In beiden Proben machen Eugenol und Caryophyllen zusammen jeweils mehr als 95 % der Peakfläche des Fragmentions m/z 165 aus. Unterschiede im SIM-Profil sind lediglich für das Fragmention m/z 74 feststellbar. In der frischen Nelkenprobe macht Methylacetat 21,8 % der Gesamtfläche des Fragmentions m/z 74 aus, in der Lagerprobe beträgt dieser Anteil 89,9 %. Dies geht mit dem mittels HS-GC-FID nachgewiesenen Anstieg der Konzentration von Methylacetat während der Lagerung (Tab. VI.10) einher.

Tab. VI.10: Mittels HS-GC-MS (SIM) ermittelte Peakflächensumme der Fragmentionen m/z 74, m/z 91 und m/z 165 in frischem und gelagertem Gewürznelkenpulver [10⁶ Zählereignisse]

m/z	frisch	gelagert
74	11,4	56,6
91	329,3	248,3
165	1,5	1,0

2.3 Sensormessungen und Mustererkennung

In Tabelle VI.11 sind die normierten Intensitäten der Fragmentionen m/z 74, m/z 91 und m/z 165 für die Nelkenproben unterschiedlicher Lagerdauer einander gegenübergestellt; ihre graphische Darstellung findet sich in Abbildung VI.12.

Tab. VI.11: Normiertes Muster der Intensitäten (Mittelwerte und relative Standardabweichungen)

m/z	frisch	gelagert
74	6,8 ± 0,4	20,4 ± 3,1
91	88,8 ± 0,6	75,9 ± 2,6
165	4,4 ± 0,8	3,7 ± 0,6

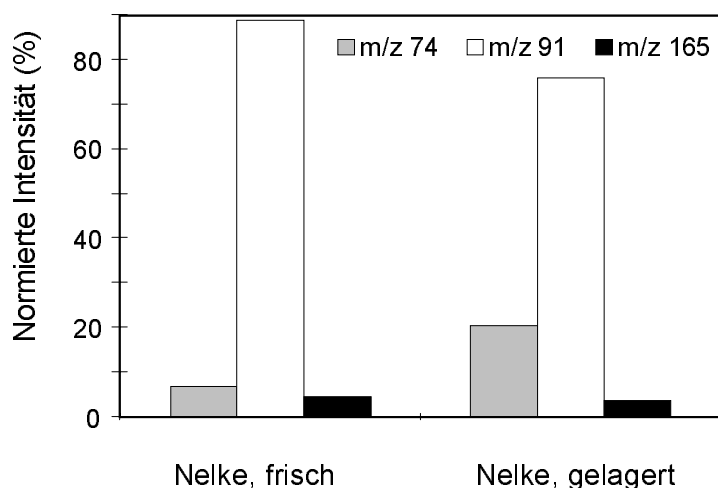


Abb. VI.5 Normierte Signalmuster

Die Signalmuster der normierten Intensitäten der frischen und der gelagerten Nelken zeigen deutliche Unterschiede. Daraus resultiert eine gute Trennbarkeit der Proben im Merkmalsraum (Abb. VI.6).

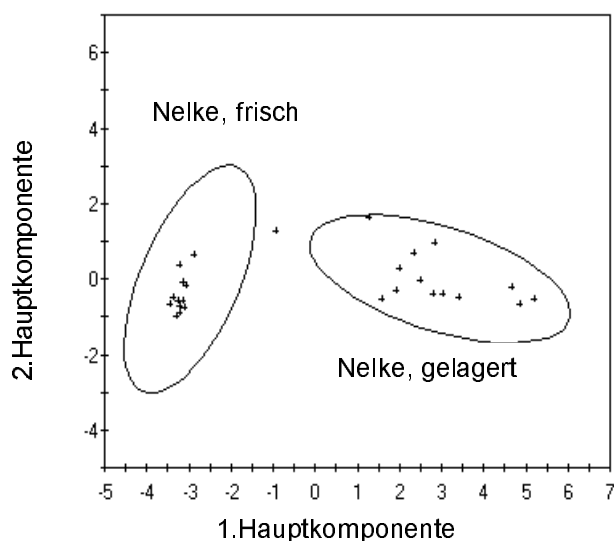


Abb. VI.6: Diskriminanzebene

2.4 Diskussion

Es wurde ein Sensor-MS Verfahren zur Detektion der lagerungsbedingten Qualitätsminderung in Gewürznelken entwickelt. Die Grundlage dieses Verfahrens war die lagerungsbedingte Zunahme des Methylacetatanteils im Kopfraum über gemahlene Gewürznelken bei gleichzeitiger Abnahme der Hauptinhaltsstoffe Eugenol und Caryophyllen. Das Fragmentationen-Array, der hierbei verwendet wurde, setzte sich aus den Fragmentationen m/z 74, m/z 91 und m/z 165 zusammen.

Es darf angenommen werden, daß die Wahl der Aufbewahrungsbedingungen einen großen Einfluß auf die Zusammensetzung des Kopfraumgases über dem gelagerten Gewürzpulver hat. So wurde ein genereller Verlust an Aromastoffen nachgewiesen. Dieser deutet darauf hin, daß die Lagerung in Braunglasflaschen nicht gasdicht, sondern unter Luftzutritt erfolgte. Bestätigt wird diese Annahme durch die beobachtete Bildung von Methylacetat, welche nach Koller (1979b) durch die Hydrolyse von Eugenylacetat eingeleitet wird. Dies deutet auf eine hohe Wasseraktivität im Lagerungsgut hin. Vermutlich hat der Zutritt feuchter Luft aus dem Kühlschranksinneren nicht nur die Entstehung von Methylacetat begünstigt, sondern auch die Austrocknung des Gewürzpulvers verhindert und einem starken Verlust an wertgebenden flüchtigen Inhaltsstoffen vorgebeugt. Die verhältnismäßig geringe Abnahme des Es-

sigsäuregehalts ist ein Hinweis darauf, daß durch diese Art der Lagerung der Verlust an polaren Komponenten weniger groß ist als bei unpolaren Verbindungen. Dies würde bedeuten, daß auch der lagerungsbedingte Verlust von Methylacetat im durchgeführten Lagerungsversuch verhältnismäßig gering war.

Es stellt sich daher die Frage, ob das entwickelte HS-MS-Verfahren sich ebenso dazu eignet, Aussagen über die Lagerzeit von Nelkenpulver zu machen, das unter anderen als den hier gewählten Bedingungen aufbewahrt wurde. Einen ersten Hinweis darauf, daß die lagerungsbedingte Zunahme an Methylacetat auch bei Lagerung unter Lichtzutritt sowie in offenen Behältnissen nachweisbar ist, gibt Koller (1979a). Folglich sollten mittels Sensor-Massenspektrometrie auch Aussagen über die Lagerdauer solcher Nelkenpulver gemacht werden können. Dies sollte jedoch durch weiterführende Untersuchungen bestätigt werden.

Schließlich bedarf die Frage nach der breiten Anwendbarkeit des HS-MS-Verfahrens noch einer genaueren Betrachtung. Gewürznelken sind Produkte pflanzlichen Ursprungs, demzufolge sind auch ihre Inhaltsstoffe naturbedingten Schwankungen unterworfen. So ist bekannt, daß der Eugenolgehalt im Verlauf der Reifung um nahezu 20 % zu- und der Eugenylacetatgehalt gleichzeitig um 15 % abnimmt [Gopala-Krishnan, 1982]. Standortbedingte Unterschiede in der Zusammensetzung und Qualität wurden bereits beschrieben [Melchior und Kaster, 1974; Parry, 1969]; Witterungs- bzw. jahrgangsbedingter Unterschiede der Eugenol- und Caryophyllengehalte können ebenfalls nicht ausgeschlossen werden. Inwieweit sich diese Schwankungen auf das Signalmuster und damit auf die korrekte Beurteilung der Lagerdauer auswirkt, bedarf der weiteren Untersuchung. Möglicherweise können die erwähnten standortbedingten Schwankungen sogar dazu genutzt werden, Nelken gleichzeitig nach Lagerdauer und Provenienz zu diskriminieren. Zum jetzigen Zeitpunkt kann darüber allerdings nur spekuliert werden.

Aussichtsreich erscheint es, das entwickelte Meßverfahren zu einem ersten bewertenden Vergleich der Aromaqualität von Nelkenpulver heranzuziehen. Mit m/z 91 und m/z 165 geht das Verhältnis von Caryophyllen zu Eugenol in die Mustererkennung ein. Gute sensorische Qualität ist gleichbedeutend mit einem hohen Gehalt am Geruchsträger Eugenol [Moyler, 1978]. gleichzeitig ist laut Koller (1979a) ein niedriger Gehalt an β -Caryophyllen wünschenswert. Offenbar verschlechtert β -Caryophyllen

mit seiner „krautig-würzigen“ Note [Ohloff, 1990] das sensorische Profil des Gewürzes. Interessant ist daher gerade in diesem Zusammenhang, daß es als Artefakt bei der Destillation der etherischen Öle nachgewiesen werden konnte [Walter, 1972; Koller, 1979c]. Das bei einer HS-MS-Messung erhaltene Signalmuster könnte daher durchaus repräsentativ für die sensorische Qualität der untersuchten Probe sein. Einschränkend bleibt jedoch festzustellen, daß dabei weder die Aromakomponente Eugenylacetat noch weitere schwerer flüchtige geruchsaktive Nebenkomponten bei der Klassifizierung der Proben berücksichtigt wurden.

3. Rosenöle

3.1 Einleitung

Rosenöl ist das durch Wasserdampfdestillation aus Rosenblüten gewonnene etherische Öl. Die Gattung *Rosa* umfaßt weltweit ca. 100 Arten mit mehr als 20000 Sorten von Kulturrosen. Davon werden jedoch nur einige wenige Varietäten der drei Sorten *Rosa damascena*, *Rosa alba* und *Rosa centifolia* zur Gewinnung von Rosenöl kultiviert.

Aufgrund des außergewöhnlichen Arbeitsaufwands bei der Handpflückung der Blütenköpfe und der geringen Ausbeuten der Wasserdampfdestillation von nur 0,02-0,03 % gehört Rosenöl zu den teuersten etherischen Ölen. 1985 betrug der Preis 11 000-12 000 DM/kg, bei einer Weltjahresproduktion von 1-2,5 Tonnen. Herkunftsländer für Rosenöl sind Bulgarien, Frankreich, Marokko, Türkei, Italien, Syrien, Indien, China und die ehemalige Sowjetunion (Römpps Lexikon der Lebensmittel, 1995). Rosenöl findet Verwendung in der Parfüm- und Kosmetikindustrie, daneben dient es in der Lebensmittelindustrie zur Aromatisierung von Zucker, Marzipan, Tabakwaren und Likören. Es wirkt schwach antiseptisch und leicht narkotisierend, ist aber nicht hautreizend (Römpps Lexikon der Lebensmittel, 1995).

Neben Rosenöl sind auch das wesentlich preiswertere „konkrete Rosenöl“ und die sog. „Essence absolue“ im Handel. Ersteres wird durch Extraktion der Blüten mittels Hexan bzw. Petrolether in 25 %iger Ausbeute gewonnen, Rosenöl-Absolue ist ein ethanolischer Auszug dieses Rosenöl-*Concrete*. Eine ausführliche Beschreibung dieser Herstellungstechniken findet sich in Guenther (1952), Gildemeister und Hoffmann (1959), Garnero, (1976), Garnero (1982), Nicolov et al. (1976), Buccelato (1980) und Lawrence (1991).

Bulgarisches Rosenöl wird aus der hellrot- bzw. rosablühenden bulgarischen Damascenerrose (*Rosa damascena* Miller) hergestellt und besitzt einen „charakteristischen, schwer nachzuahmenden Geruch nach Rosenblüten mit Tee- und Honignoten“. Da von seiten der Parfümindustrie großes Interesse an der Aufklärung der wertgebenden Inhaltsstoffe bestand, war die Zusammensetzung dieses etherischen Öls in qualitativer, quantitativer, aber auch sensorischer Hinsicht Gegenstand zahlreicher Untersuchungen [Lawrence, 1991; Lawrence, 1997; Bayrak und Akguel, Brunke et

Brunke et al., 1992; Knapp et al., 1998; Kováts, 1987; Hadjieva et al., 1980; Masada, 1976; Ohloff und Demole, 1987]. Hauptkomponenten des bulgarischen Rosenöls sind S-(-)-Citronellol (22-55 %) [Garnero, 1982; Anac, 1984; Kováts, 1987; Kükçüoğlu, 1988] sowie Geraniol und Nerol (zusammen ca. 30-40 %), ferner in geringeren Mengen Phenylethanol, cis-3-Hexenol, Linalool, Farnesol, Nonanal, Citral, Eugenol, Carvon, Eugenolmethylether etc. (Müller, 1975; Römpps Lexikon Lebensmittelchemie, 1995). Insgesamt wurden ca. 160 Inhaltstoffe identifiziert, die zum größten Teil zur Klasse der Terpenkohlenwasserstoffe bzw. zu deren Derivaten (Terpenalkohole, -ketone, -aldehyde und -ester) gehören.

In sensorischer Hinsicht sind vor allem Neben- und Spurenkomponenten von entscheidender Bedeutung für den Gesamtgeruchseindruck: Die mit einem Geruchsschwellenwert von 0,002-0,004 ng/L [Rychlik et al., 1998] äußerst geruchsaktive Verbindung β -Damascenon ist sehr bedeutsam für die typische „Rosen“-Note [Ohloff und Demole, 1987; Naves, 1974]; daneben haben die diastereomeren (-)-Rosenoxide mit ihrer blumigen Note [Seidel et al., 1961; Ohloff, 1987; Garnero, 1982], die Rosenketone mit ihrem Geruch nach exotischen Blüten, das rosenartig riechende Phenylethanol und der Veilchenriechstoff β -Jonon einen wesentlichen Anteil an der Basisnote des etherischen Öls [Ohloff und Demole, 1987]. Die süße, kraftvolle Honignote des bulgarischen Rosenöls wird auf den Gehalt an 2-Methylbuttersäurephenylethylester, 2-Methylpropionsäurephenylethylester und Benzyltiglat zurückgeführt. Perillen, Neroloxid, Rosenfuran und sein Tetrahydroderivat sowie p-Menth-1-en-9-al tragen ebenfalls zum Geruchseindruck bei [Büchi et al., 1968; Ohloff und Demole, 1987; Ohloff et al., 1969], während die Monoterpenkohlenwasserstoffe Citronellol, Nerol und Geraniol für die frische, citrusartige Note verantwortlich sind.

Studien zur Charakterisierung von Rosenölen aus Blüten anderer Sorten sind weit weniger zahlreich [Nishimura et al., 1962; Nakamura, 1987; Tucker und Maciarelo, 1988; Ueyama et al., 1990; Brunke et al., 1992; Gora et al., 1995], erhielten aber in den letzten Jahren gesteigerte Aufmerksamkeit. Die Ursache dafür ist die Suche nach preisgünstigen und dennoch qualitativ hochwertigen Alternativen zum außerordentlich teuren bulgarischen Rosenöl ebenso wie der Versuch der Rekonstruktion des Naturprodukts aus synthetischen Grundstoffen.

Im folgenden wurde eine Meßmethode auf Basis der MS-Direktinjektion entwickelt, die die Differenzierung der Öle hinsichtlich der Sortenzugehörigkeit des verwendeten Blütenmaterials ermöglicht. Ebenso wurde auch eine Methode zur Kontrolle der Produktkonstanz von Rosenölen ausgearbeitet.

3.2 Entwicklung der Meßmethode für den MS-Sensor

Es wurden drei Rosenöle verschiedener Herkunft zur Entwicklung der Sensor-MS-Methode herangezogen. Sie wiesen folgende Merkmale auf:

Tab. VI.12: Farbe und Aroma der untersuchten Rosenöle

Bezeichnung, Herkunft	Sorte	Farbe	Aroma (Kopfnote)
Bulgarien, Destillat	<i>Rosa damascena</i> Miller	dunkelrot	Rose, süß
Marokko, Destillat	<i>Rosa centifolia</i> L.	gelb	Rose, blumig
Rosenöl, synthetisch	--	schwach gelb	Rose, zitrus

HS-GC-FID-, HS-GC-MS- und Sensor-MS-Analysen wurden mit jeweils 50 mg der etherischen Öle durchgeführt. Als Meßbedingungen der statischen Headspace-Probenaufgabe wurde eine 15 minütige Thermostatisierung bei 60 °C gewählt.

3.2.1 Bestimmung der Headspacezusammensetzung

Durch HS-GC-MS- sowie HS-GC-FID-Analyse wurde zunächst die qualitative und quantitative Zusammensetzung des Kopfraumgases über den verschiedenen Rosenölen ermittelt. In Tabelle VI.13 sind die Anteile der flüchtigen Verbindungen der drei Rosenöle zusammengefaßt.

Tab. VI.13: %-Anteile der flüchtigen Inhaltsstoffe im Kopfraum über Rosenölen unterschiedlicher Herkunft

Nr.	RI ^a	Verbindung	Bulgarien, Destillat	Marokko, Destillat	Rosenöl, synthetisch
1	612	Ethylacetat	5,86	n.n.	1,86
2	652	3-Methylbutanal	1,24	1,92	Sp.
3	661	1-Butanol	5,08	Sp.	Sp.
4	690	3-Methylpentan	1,81	n.n.	n.n.
5	696	Pentanal	0,55	1,95	n.n.
6	700	Heptan	2,69	Sp.	n.n.
7	701	3-Methylhexan	n.n.	n.n.	1,07
8	732	1,1-Diethoxyethan	n.n.	8,90	n.n.
9	737	3-Methylbutanol	1,40	7,58	33,75
10	741	2-Methylbutanol	4,06	n.n.	n.n.
11	775	Toluol	n.n.	n.n.	1,93
12	790	Ameisensäurepentylester	n.n.	n.n.	2,11
13	799	Hexanal	2,15	1,20	n.n.
14	835	n.i.	n.n.	n.n.	0,83
15	853	2-Methylbuttersäureethylester	2,17	n.n.	n.n.
16	872	1-Hexanol	4,40	2,43	n.n.
17	878	3-Methylpentanol	0,26	n.n.	n.n.
18	880	Essigsäure-3-Methylbutylester	1,25	n.n.	n.n.
19	900	Heptanal	3,10	1,32	n.n.
20	944	α -Pinen	14,51	41,17	10,44
21	960	Camphen	n.n.	0,26	Sp.
22	969	Benzaldehyd	n.n.	n.n.	0,40
23	978	n.i.	n.n.	0,39	0,52
24	981	Sabinen	2,15	1,56	0,18
25	987	β -Pinen	4,57	7,72	2,28
26	993	Myrcen	7,65	9,67	2,73
27	996	n.i.	n.n.	n.n.	0,30
28	1001	Octanal	n.n.	n.n.	2,51
29	1008	α -Phellandren	n.n.	0,41	0,97
30	1018	Δ^3 -Caren	0,91	0,94	n.n.
31	1033	p-Cymol	1,03	1,08	0,46

Fortsetzung Tab. VI.13: %-Anteile der flüchtigen Inhaltsstoffe im Kopfraum über Rosenölen unterschiedlicher Herkunft

Nr.	RI ^a	Verbindung	Bulgarien, Destillat	Marokko, Destillat	Rosenöl, synthetisch
32	1038	Limonen	2,75	3,63	13,84
33	1040	1,8-Cineol	0,84	0,29	n.n.
34	1042	n.i.	0,77	n.n.	n.n.
35	1052	E- β -Ocimen	n.n.	Sp.	0,81
36	1067	γ -Terpinen	n.n.	n.n.	Sp.
37	1096	Terpinolen	0,26	n.n.	n.n.
38	1102	Linalool	17,96	3,48	4,30
39	1116	cis-Rosenoxid	4,21	3,14	2,92
40	1136	trans-Rosenoxid	1,80	0,95	1,17
41	1161	n.i.	0,66	n.n.	n.n.
42	1167	Menthon	n.n.	n.n.	1,46
43	1178	Isomenthon	n.n.	n.n.	3,98
44	1191	Terpinen-4-ol	0,66	n.n.	n.n.
45	1203	α -Terpineol	0,76	n.n.	n.n.
46	1233	Citronellol	2,49	n.n.	2,76
47	1258	Essigsäurelinalylester	n.n.	n.n.	3,89
48	1278	Ameisensäurecitronellylester	n.n.	n.n.	2,00
49	1299	Essigsäurebornylester	n.n.	n.n.	0,53

^a Retentionsindizes auf Kapillarsäule DB-5

Tab. VI.14: %-Anteile der flüchtigen Inhaltsstoffe im Kopfraum über Rosenölen unterschiedlicher Herkunft, geordnet nach Stoffgruppen

Stoffgruppe	Bulgarien, Destillat	Marokko, Destillat	Rosenöl, synthetisch
Monoterpenkohlenwasserstoffe	32,79	65,36	32,15
Monoterpenalkohole	21,86	3,48	7,26
Terpenketone	-	<0,2	5,60
veresterte Terpene	<0,2	<0,2	6,61
Monoterpenkohlenwasserstoffe mit Etherfunktion	6,85	4,39	4,20
Sonstige	38,50	26,77	44,17

Aus den Tabellen VI.13 und VI. 14 geht hervor, daß die drei Rosenöle sich vor allem im Monoterpen-Anteil des Kopfraumgases unterschieden. In Abb. VI.7 sind die Inhaltsstoffe des Headspaces daher nach Stoffgruppen geordnet graphisch dargestellt.

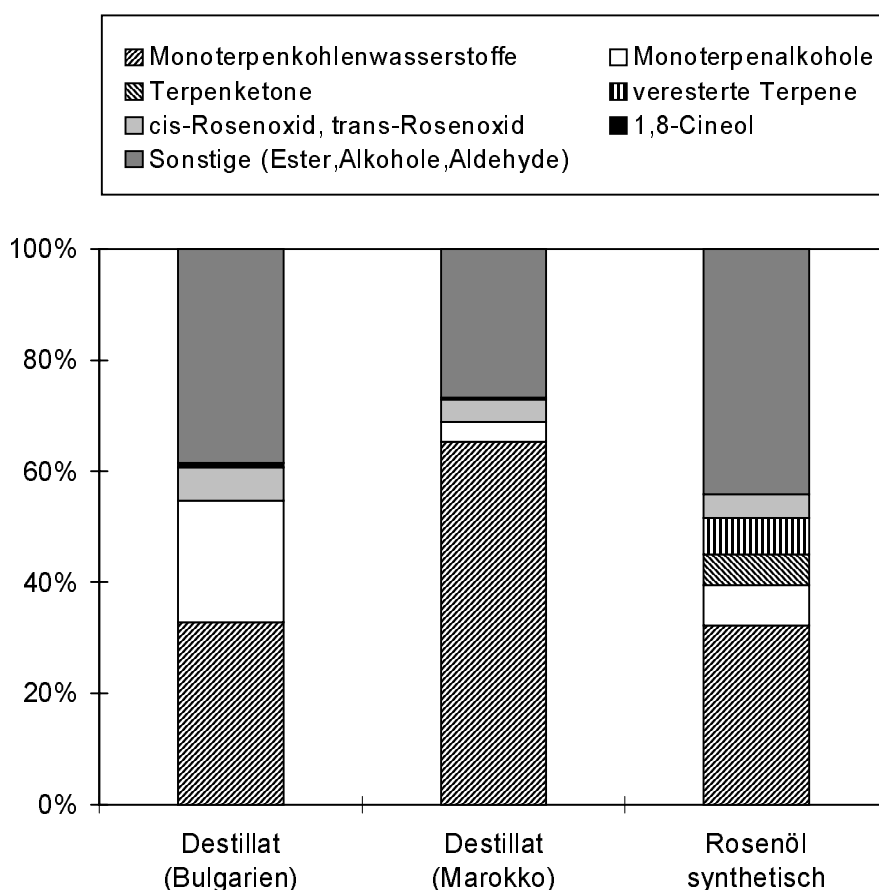


Abb. VI.7: %-Anteile der flüchtigen Inhaltsstoffe im Kopfraum über Rosenölen unterschiedlicher Provenienzen, geordnet nach Stoffgruppen

Wie aus Tabelle VI.14 ersichtlich ist, bildeten die Monoterpenkohlenwasserstoffe bei allen drei Rosenölen die mengenmäßig dominierende Stoffgruppe. Im marokkanischen Destillat betrug ihr Gehalt 65 %, während sie im bulgarischen und im künstlichen Rosenöl nur 32 % aller flüchtigen Inhaltsstoffe ausmachten. Im Kopfraum des Destillates aus Marokko war nicht nur die geringste Menge an Terpenalkoholen aufzufinden, auch das Verhältnis von cis-Rosenoxid zu trans-Rosenoxid war mit einem Wert von 3,3 wesentlich höher als bei den beiden anderen Proben. In diesen Proben lag das Isomeren-Verhältnis bei 2,3 (bulgarisches Destillat) bzw. 2,5 (synthetisches

Rosenöl). Augenfällig ist außerdem, daß nur im synthetischen Rosenöl veresterte Terpenkohlenwasserstoffe und Terpene mit Ketofunktion nachweisbar waren. Bei der hier gewählten Thermostatisierungstemperatur von 60 °C waren in keinem der ätherischen Öle Sesquiterpenkohlenwasserstoffe im Dampfraum nachweisbar.

3.2.2 Auswahl der Fragmentionen für das Sensor-Array

Sensor-Array 1 zur Sortendifferenzierung

Als Grundlage der Meßmethode zur Differenzierung von Rosenölen im Hinblick auf die Sortenzugehörigkeit des destillierten Blütenmaterials wurden terpenoide Substanzen herangezogen. Diese werden im Rahmen der Biosynthese in der Pflanze gebildet, wobei ihre Verteilung in den Blütenblättern genetisch determiniert ist. Setzt man vergleichbare Bedingungen bei der Destillation des Blütenmaterials voraus, dann läßt die Verteilung der Terpene im ätherischen Öl Rückschlüsse auf deren Verteilung im destillierten Blütenmaterial zu. Die Auswahl der Fragmentionen für das Sensor-Array, welches zur Sortendifferenzierung herangezogen werden sollte, trug dem Rechnung. Es bestand aus den für Monoterpene typischen Fragmentionen m/z 68, m/z 77 und m/z 121.

Sensorarray 2 zur Kontrolle der Produktkonstanz

Als Grundlage der Meßmethode zur Kontrolle von Rosenölen im Hinblick auf die Produktkonstanz und Einhaltung vorgegebener Versuchsparameter bei der Destillation des Rohmaterials dienten die Mengenverhältnisse der isomeren Rosenoxide zur gesamten Fraktion der Monoterpenkohlenwasserstoffe. Das gewählte Fragmentionen-Array bestand dementsprechend aus m/z 92, m/z 139 und m/z 154. Mit m/z 92 wurde ein Fragmention gewählt, dessen Intensität die Gesamtheit der Monoterpenkohlenwasserstoffe repräsentiert, m/z 139 und m/z 152 sind typische Fragmentierungsprodukte von cis- und trans-Rosenoxid. Da cis- und trans-Rosenoxid einen wichtigen Beitrag zum Aromaprofil von Rosenöl leisten, wurde mit diesen Fragmentionen auch die sensorische Qualität der untersuchten Proben miteinbezogen.

3.2.3 Ermittlung des Ionenspuren-Profiles mittels HS-GC-MS

Sensorarray 1

In Tabelle VI.15 ist dargestellt, wie sich die Gesamtpeakfläche der Ionenspuren m/z 68, m/z 77 und m/z 121 in den unterschiedlichen Rosenöl-Proben zusammensetzt. Die Summe aller im zeitaufgelösten HS-GC-MS-Chromatogramm (Full-Scan) integrierten Peakflächen wurde für jedes Fragmention als 100 % gesetzt.

Tab. VI.15: %-Anteile an der Peakflächensumme für die Fragmentionen m/z 68, m/z 77 und m/z 121, geordnet nach Stoffgruppen (HS-GC-MS, Full Scan)

m/z	Verbindungs-klasse	Bulgarien, Destillat	Marokko, Destillat	Rosenöl, synthetisch
m/z 68	Monoterpenkohlenwasserstoffe	40,7	80,1	82,4
	Terpenalkohole	37,4	8,4	5,9
	Terpenkohlenwasserstoffe mit Etherfunktion	1,5	0,5	0,3
	veresterte Terpenkohlenwasserstoffe	3,0	0,6	6,5
	Terpenkohlenwasserstoffe mit Ketofunktion	-	-	1,1
	Sonstige	17,4	10,4	10,6
m/z 77	Monoterpenkohlenwasserstoffe	88,0	95,7	71,9
	Terpenalkohole	11,2	1,1	2,7
	Terpenkohlenwasserstoffe mit Etherfunktion	0,8	0,5	0,2
	veresterte Terpenkohlenwasserstoffe	-	-	4,5
	Sonstige	-	2,7	10,6
	m/z 121	Monoterpenkohlenwasserstoffe	66,4	82,4
Terpenalkohole		33,6	2,6	7,6
Terpenkohlenwasserstoffe mit Etherfunktion		-	0,3	-
veresterte Terpenkohlenwasserstoffe		-	6,5	15,3
Terpenkohlenwasserstoffe mit Ketofunktion		-	1,1	1,2
Sonstige		-	3,8	3,1

Monoterpenkohlenwasserstoffe machten in allen untersuchten Proben zwischen 40,7 % und 95,7 % der Peakflächensumme der Fragmentionen m/z 68, m/z 77 und m/z 121 aus. Der Anteil der Terpenalkohole an den jeweiligen Peakflächensummen war im Destillat der bulgarischen Damascener-Rose am größten, im Destillat der marokkanischen Zentifolie für m/z 77 und m/z 121 am kleinsten. Der Beitrag zur Gesamtpeakfläche, den veresterte Terpenkohlenwasserstoffe im synthetischen Rosenöl leisteten, war von allen untersuchten Proben am größten, gleichzeitig war der Beitrag von Terpenen mit Etherfunktion in dieser Probe am geringsten. Nichtterpenoide Verbindungen hatten im bulgarischen Destillat den größten Anteil, er betrug 17,4 % für m/z 68. Sehr kleine Beiträge nichtterpenoider Inhaltsstoffe von 2,7 % und 3,8 % zeigten sich im marokkanischen Destillat für m/z 77 bzw. m/z 121. Im synthetischen Produkt war der Beitrag von Inhaltsstoffen, die nicht zur Klasse der Terpenkohlenwasserstoffe gehörten, für m/z 68 und m/z 121 ähnlich hoch wie im marokkanischen Destillat. Er betrug in beiden Proben ca. 10 % bzw. 3 %.

Sensorarray 2

In Tabelle VI.16 ist dargestellt, wie sich die Gesamtpeakfläche der Ionenspuren m/z 92, m/z 139 und m/z 154 in den unterschiedlichen Rosenöl-Proben zusammensetzt. Die Summe aller im zeitaufgelösten HS-GC-MS-Chromatogramm integrierten Peakflächen wurde für jedes Fragmention auf 100 % gesetzt.

Wie aus Tabelle VI.16 hervorgeht, hatten die isomeren Rosenoxide in allen Rosenölen einen Anteil von ca. 80 % an den Peakflächensummen der Ionen m/z 139 und m/z 154. Einzig im synthetischen Produkt zeichneten Menthon und Isomenthon (mit 21,7 % bzw. 44,0 %) zusammen für mehr als 65 % der Peakfläche des Fragmentions m/z 154 verantwortlich.

Tab. VI.16: %-Anteile an der Peakflächensumme für die Fragmentionen m/z 92, m/z 139 und m/z 154 (HS-GC-MS, Full Scan)

m/z	Verbindung	Bulgarien, Destillat	Marokko, Destillat	Rosenöl, synthetisch
m/z 92	Monoterpenkohlenwasserstoffe ^a	100	100	100
m/z 139	cis-Rosenoxid	66,8	70,7	52,1
	trans-Rosenoxid	29,9	24,9	20,2
	n.i. (RI ^b = 978)	1,5	4,4	4,9
	Linalool	1,9	-	-
	Menthon	-	-	6,8
	Isomenthon	-	-	16,0
m/z 154	cis-Rosenoxid	80,4	70,0	29,7
	trans-Rosenoxid	-	8,9	4,7
	Terpinen-4-ol	8,3	-	-
	n.i. (RI ^b =1042)	11,3	21,1	-
	Menthon	-	-	21,7
	Isomenthon	-	-	44,0

^a Zusammensetzung siehe Tab. VI.13

^b Retentionsindizes auf Kapillarsäule DB-5

Tab. VI.17: Peakflächensumme der Fragmentionen m/z 92, m/z 139 und m/z 154, ermittelt auf Basis der HS-GC-MS- Analysen (Full Scan, 10⁸ Zählereignisse)

m/z	Bulgarien, Destillat	Marokko, Destillat	Rosenöl, synthetisch
92	10,9	52,9	26,2
139	3,4	8,3	8,6
154	15,0	62,3	37,2

3.2.4 Sensormessungen und Mustererkennung

Zur Durchführung der Sensor-MS-Messungen wurden jeweils 50 mg Rosenöl in ein Headspace-Vial überführt. Nach 15 Minuten Thermostatisierung bei 60 °C wurde der

Headspace ins Massenspektrometer entspannt. Die Aufzeichnung der Intensitäten erfolgte im Full-Scan-Verfahren, der Massenbereich war 46-300 amu.

In den Tabellen VI.18 und VI.19 sind die normierten Intensitäten der Fragmentationen des Arrays 1 (m/z 68, m/z 77, m/z 121) und des Arrays 2 (m/z 92, m/z 139, m/z 154) für die drei untersuchten Rosenöle einander gegenübergestellt. Die graphischen Darstellungen der normierten Signalmuster finden sich in den Abbildungen VI.11 und VI.12.

Tab. VI.18: Normiertes Muster der Intensitäten, Sensorarray 1
(Mittelwerte und Standardabweichungen)

m/z	Bulgarien, Destillat	Marokko, Destillat	Rosenöl, synthetisch
68	45,7 ± 2,9	32,6 ± 3,2	58,2 ± 1,7
77	37,5 ± 1,9	51,4 ± 2,4	29,1 ± 2,7
121	16,7 ± 5,2	16,0 ± 2,5	12,7 ± 5,3

Tab. VI.19: Normiertes Muster der Intensitäten, Sensorarray 2
(Mittelwerte und Standardabweichungen)

m/z	Bulgarien, Destillat	Marokko, Destillat	Rosenöl, synthetisch
92	72,8 ± 1,5	83,4 ± 4,5	74,1 ± 18,4
139	22,9 ± 1,6	14,3 ± 8,5	20,6 ± 9,8
154	4,3 ± 1,6	20,6 ± 5,8	5,3 ± 7,5

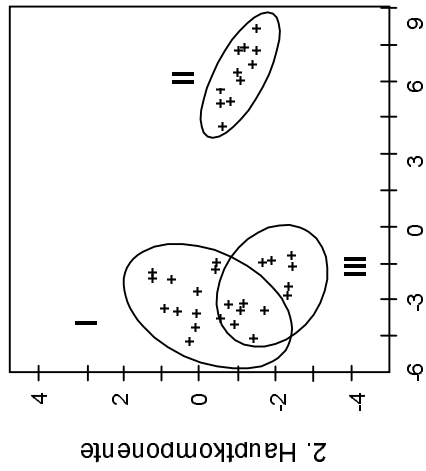
Sensorarray 2 zur Kontrolle der Produktkonstanz

Das normierte Signalmuster des marokkanischen Rosenöl unterscheidet sich deutlich von dem des bulgarischen und dem des synthetischen Rosenöls. Daraus resultiert eine gute Trennbarkeit der Proben „Destillat *Rosa centifolia*, Marokko“ und „Destillat *Rosa damascena*, Bulgarien“ im Merkmalsraum (Abb. VI.8). Die Klassen für bulgarisches und synthetisches Rosenöl zeigen dagegen deutliche Überschneidungen. Die normierten Signalvektoren sind einander sehr ähnlich und stellen sich daher nicht in räumlich getrennten Bereichen der Diskriminanzebene dar. Augenfällig ist die starke Streuung der Intensitäten aller Fragmentationen der Klasse „Rosenöl, synthetisch“: 7,5 % (m/z 92), 9,8 % (m/z 139) und 18,4 % (m/z 154).

Sensor-Array 1 zur Sortendifferenzierung

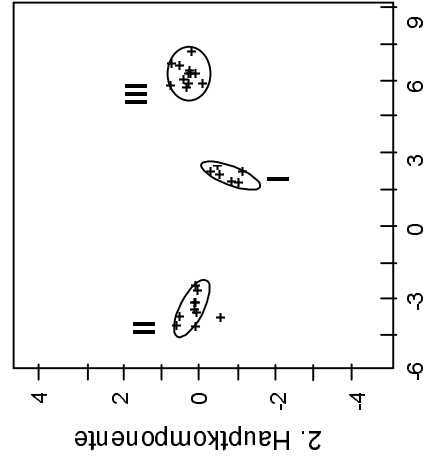
Die Cluster aller Rosenöle sind auf der Diskrimanzebene räumlich getrennt. Die gute Trennbarkeit der Proben „Destillat *Rosa centifolia*, Marokko“, „Destillat *Rosa damascena*, Bulgarien“ und des synthetischen Rosenöls im Merkmalsraum (Abb. VI.9) ist darauf zurückzuführen, daß sich die Signalmuster dieser Klassen stark unterscheiden. Mit einer Varianz von durchschnittlich 3,1 % ist die Streuung innerhalb der drei Klassen verhältnismäßig klein.

I *Rosa damascena*
 Bulgarien
II *Rosa centifolia*
 Marokko
III Rosenöl,
 synthetisch



1. Hauptkomponente

Abb. VI.8: Diskriminanzebene für Array 2



1. Hauptkomponente

Abb. VI.9: Diskriminanzebene für Array 1

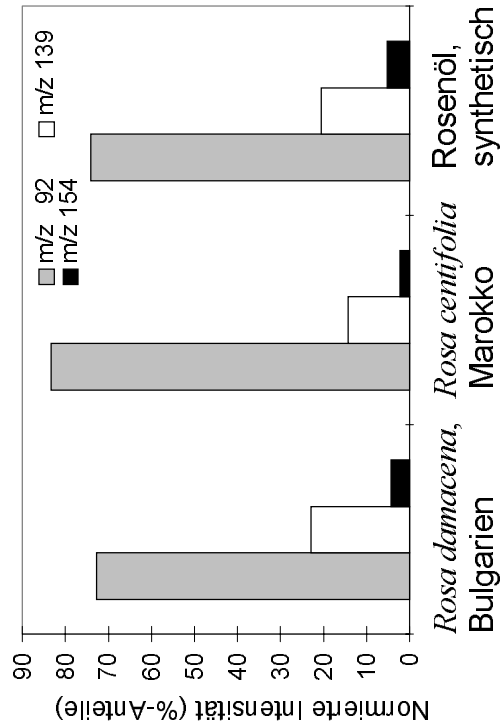


Abb. VI.10: Normiertes Signalmuster, Array 2

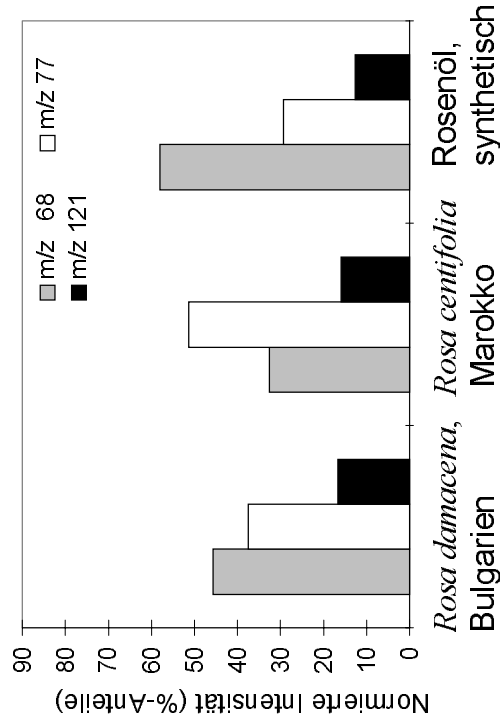


Abb. VI.11: Normiertes Signalmuster, Array 1

3.2.5 Rechnerische Herleitung des Signalmusters – Absicherung der Meßergebnisse

Zur Kontrolle der Richtigkeit des experimentell ermittelten Signalmusters wurden aus den in Tab. VI.17 aufgeführten Peakflächensummen die zu erwartenden Signalmuster berechnet. (Tab. VI.20 und Tab. VI.21). Der Vergleich experimenteller mit berechneten Werten ergibt eine gute Übereinstimmung.

Tab. VI.20: Auf Grundlage der Peakflächensumme berechnete Signalmuster für Rosenöle unterschiedlicher Herkunft – Sensorarray 1

	Bulgarien, Destillat	Marokko, Destillat	Rosenöl, synthetisch
m/z 92	73,0	85,0	70,3
m/z 139	23,0	13,4	23,1
m/z 154	4,0	1,7	6,5

Tab. VI.21: Auf Grundlage der Peakflächensumme berechnete Signalmuster für Rosenöle unterschiedlicher Herkunft – Sensorarray 2

	Bulgarien, Destillat	Marokko, Destillat	Rosenöl, synthetisch
m/z 68	32,9	22,3	55,1
m/z 77	17,7	60,9	31,2
m/z 121	49,3	16,8	13,7

3.3 Diskussion

Die Ergebnisse der hier durchgeführten Untersuchungen zeigen, daß die Differenzierung von Rosenölen aus Blütenmaterial der Sorten *Rosa damascena* (Bulgarien) und *Rosa centifolia* (Marokko) mittels HS-MS in Kombination mit Mustererkennung grundsätzlich möglich ist. Als wenig vorteilhaft bei der Bewertung der Allgemeingültigkeit der Ergebnisse erwies sich allerdings die Verwendung der statischen Headspace-Technik zur Probenaufgabe. Die Gasphasenkonzentration einer flüchtigen Verbindung hängt nicht nur von ihrer Konzentration im etherischen Öl ab, sondern auch von

ihrer Flüchtigkeit. Daher ist die Headspace-Zusammensetzung eines untersuchten Öles zwar charakteristisch für dieses Öl, spiegelt jedoch nicht die Verhältnisse im Destillat wieder. Untersuchungen von Rosenölextrakten mittels GC-MS (Flüssiginjektion) sind zwar in der Literatur [u. a. Kováts, 1987] beschrieben, nicht jedoch die Untersuchung mittels statischer-Headspace-Technik.

Für die Untersuchung der Rosenöle hat die Verwendung der Dampfraumanalyse folgende Bedeutung: Ausschließlich die leicht- und mittelflüchtigen Inhaltsstoffe der untersuchten Rosenöle – kurzkettige Alkohole, Aldehyde und vor allem Monoterpenkohlenwasserstoffe mit $RI < 1300$ – wurden in den Dampfraum überführt, nicht jedoch schwererflüchtige Inhaltsstoffe wie Sesquiterpene oder Paraffine. Zudem war die Verteilung der Monoterpenverbindungen im Probenheadspace nicht mit der entsprechenden Verteilung im flüssigen etherischen Öl vergleichbar. Sie war vielmehr stark zugunsten der Monoterpenkohlenwasserstoffe mit niedrigen Siedepunkten verschoben.

Das Kopfraumgas des bulgarischen Destillats enthielt daher vergleichbar große Anteile an Monoterpenkohlenwasserstoffen und Monoterpenalkoholen, während im vorliegenden Öl der Alkohol-Anteil wesentlich höher war. Die im Rahmen dieser Arbeit vermessenen Rosenölproben waren von Kollmannsberger (1999) mittels Flüssiginjektions-GC-MS bereits untersucht worden. Für das bulgarische Rosenöl wurde dabei ein 112-fach größerer Anteil an Monoterpenalkoholen ermittelt. Über ein ähnliches Verhältnis von Monoterpenalkoholen zum Anteil von Monoterpenkohlenwasserstoffen im Destillat der Damaszener-Rose berichtete bereits Kováts (1987); hier lag es bei 120. Außerdem ist im vorliegenden Destillat α -Pinen mit 14,5 % eine Hauptkomponente des Headspaces, während ihr Anteil in der flüssigen Phase nur 0,24 % liegt (Kollmannsberger, 1999). Ein sehr starkes Mißverhältnis zwischen der Konzentration in der Gasphase und der Konzentration in der flüssigen Phase konnte auch für die Verbindungen Citronellol und Linalool gefunden werden. Während Citronellol mit 40,5 % (Kollmannsberger, 1999) den Extrakt domiert, tritt es mit 2,5 % in der Gasphase stark zurück. Hingegen ist Linalool mit 18 % die dominierende Verbindung im Dampfraum, ihr Anteil in der flüssigen Phase liegt jedoch nur bei 3 % (Kollmannsberger, 1999). Daß Destillate aus Blüten der Sorte *Rosa Damascena* Miller typischerweise 24-55 % an Citronellol enthalten, berichteten u.a. Brunke et al. (1992), Bayrak (1994), Kováts (1987) und Sood et al. (1992).

Das Kopfraumgas über dem Destillat der marokkanischen Zentifolie enthielt einen hohen Anteil (65,3 %) an Monoterpenkohlenwasserstoffen; die Gruppe der Terpen-derivate war mit 7,9 % allerdings weniger bedeutsam. Auffällig war der außerordentlich hohe Gehalt an α -Pinen (41,2 %). Aus der Zusammensetzung des flüssigen Öls läßt sich eine Erklärung für diese Dominanz ableiten. Es enthält nur verhältnismäßig wenige leichtflüchtige Verbindungen, jedoch eine Reihe an schwerer flüchtigen Inhaltsstoffen. Außerdem kommen in der Gruppe der leichtflüchtigen Verbindungen nur wenige Verbindungen in vergleichbaren Konzentrationen vor. Folglich gehört α -Pinen zu den Hauptkomponenten des Kopfraumgases, obwohl der Pinen-Anteil im flüssigen Öl nur 0,7 % beträgt. Daneben enthält das Destillat u.a. 1,5 % Linalool und 49,2 % Citronellol. Daß Blütenblätter-Destillaten der Varietät *Rosa Centifolia* L. hohe Gehalte an schwererflüchtigen Inhaltsstoffen besitzen, wird auch in der Literatur beschrieben. Nach Gora et al. (1995) sind Geraniol und Citronellol mit 26,7 % bzw. 22,9 % wenig flüchtige Hauptkomponenten des Destillats. Insofern scheint auch die im Rahmen dieser Arbeit ermittelte Headspacezusammensetzung bzw. die von Kollmannsberger (1999) ermittelte Zusammensetzung des Destillats typisch für die Sorte *Rosa centifolia* zu sein.

Der Monoterpenanteil des Headspaces über synthetischem Rosenöl lag bei 32,2 %; α -Pinen und Limonen waren mit einem Anteil von jeweils ca. 10 % Hauptkomponenten des Dampfraums neben 3-Methylbutanol mit 33,8 %. Da die Zusammensetzung eines synthetischen Produktes i. a. ein Firmengeheimnis und daher nicht öffentlich zugänglich ist, kann nichts darüber ausgesagt werden, ob das im Rahmen dieser Arbeit untersuchte synthetische Rosenöl als Musterexemplar einer Rekonstruktion angesehen werden kann. Es ist jedoch anzunehmen, daß dies nicht der Fall ist. In der Parfumindustrie sind Nachbildungen natürlicher Aromenmischungen im allgemeinen nicht nur von Parfumeur zu Parfumeur verschieden, sondern auch individuell auf den jeweiligen Verwendungszweck abgestimmt.

Das im Rahmen der HS-MS-Untersuchungen zur Sortendiskriminierung vorgeschlagene Fragmentionen-Array bestand aus den Fragmentionen m/z 68, m/z 77 und m/z 121. Damit erfolgte die Diskriminierung auf Basis des Monoterpenmusters des Kopfraumgases. Obwohl, wie bereits erwähnt, dieses Muster nicht demjenigen des Destillats entspricht, ist es doch charakteristisch für die untersuchte Rosenvarietät. Die Verwendung der statischen Headspace-Probenaufgabe beschränkt die detek-

tierbaren Verbindungen auf die leichtflüchtigen Probeninhaltsstoffe und ist daher besonders zur Untersuchung der Monoterpene geeignet. Das Muster der Monoterpene ist i. a. genetisch determiniert und sollte somit eine aussagekräftige Differenzierung der etherischen Öle nach Sortenzugehörigkeit des eingesetzten Rohstoffes zulassen. Vergleichbares wurde bereits in der Literatur beschrieben. So ist nach Rapp (1998) und Rapp et al. (1985) eine Sortendifferenzierung für deutsche Weißweine anhand des Monoterpenmusters möglich, Williams et al. (1985) untersuchten u. a. Monoterpene und Norisoprenoide in verschiedenen Traubensorten, und Kainulainen et al. (1998) berichten über die genetische Determinierung des Monoterpenmusters bei Karottengrün.

Daß die Diskriminierung der Destillate aus Blütenblättern der Sorten *Rosa Damascena* Miller und *Rosa Centifolia* L. auf Basis der Signalmuster von m/z 68, m/z 77 und m/z 121 erzielt werden konnte, gibt einen ersten Hinweis auf die Tauglichkeit des Meßverfahrens zur Sortendifferenzierung. Um dessen Allgemeingültigkeit zu prüfen, sollten weitere Messungen von Destillaten dieser und anderer Sorten durchgeführt werden. Es sollte außerdem beachtet werden, daß eine verlässliche Sortendifferenzierung nur dann erfolgen kann, wenn die äußeren Bedingungen bei der Destillation des Blütenmaterials vergleichbar sind. Andernfalls können methodisch bedingte Veränderungen in der Zusammensetzung zu einer falschen Klassifikation führen. Da bei der Verarbeitung von natürlichen Rohstoffen in praxi gewisse Schwankungen von Parametern wie Temperatur, Lagerzeit, Destillationsdauer etc. in Kauf genommen werden müssen, sollte die Tauglichkeit der entwickelten Methode zur Sortendifferenzierung durch weitere Messungen abgesichert werden.

Daß unterschiedliche Bedingungen während der Aufarbeitung der Blütenblätter möglicherweise systematische Schwankungen in der Zusammensetzung zur Folge haben, ist sicherlich ein Schwachpunkt des Meßverfahrens bei der Sortendifferenzierung. Man kann sich Veränderungen der Konzentrationen wertgebender Inhaltsstoffe jedoch zunutze machen, indem diese als Grundlage eines Verfahrens zur Kontrolle der Produktkonstanz z. B. beim Warenausgang herangezogen. Surburg et al. (1993) und Knapp et al. (1998) gehen davon aus, daß cis- und trans-Rosenoxid, zwei äußerst geruchsaktive cyclischen Ether, erst bei der Wasserdampfdestillation des Blütenmaterials aus labilen Monoterpendiolen entstehen. Ihr Vorhandensein bzw. ihre Konzentration im Destillat kann somit als Indikator für die Einhaltung der vorge-

schriebenen Parameter bei der Herstellung herangezogen werden. Außerdem sollte folgendes erwähnt werden: Für Destillate unterschiedlicher Rosensorten erhält man mittels HS-MS vermutlich nicht zwangsläufig die gleichen Signalmuster, auch wenn die etherischen Öle unter den gleichen Bedingungen hergestellt worden sind. Dies liegt daran, daß die Gehalte an Monoterpendiolen – den Vorstufen der isomeren Rosenoxide – in den Blütenblättern sortenabhängig sind.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein Meßverfahren zur Kontrolle der Produktkonstanz erarbeitet, welches auf den Fragmentationen m/z 92, m/z 139 und m/z 154 beruht. Die Diskriminierung erfolgte damit auf der Basis der Mengenverhältnisse der isomeren Rosenoxide zur gesamten Fraktion der Monoterpenkohlenwasserstoffe. Dabei repräsentierte m/z 92 die Gesamtheit der Monoterpenkohlenwasserstoffe, m/z 139 und m/z 154 waren Fragmentationen aus den Massenspektren von cis- und trans-Rosenoxid. Die hier durchgeführten Untersuchungen zeigen, daß die Differenzierung des bulgarischen vom marokkanischen Destillat auf dieser Grundlage möglich ist. Ob das Meßverfahren sich in praxi zur Kontrolle der Produktkonstanz eignet, läßt sich erst nach Durchführung weiterer Meßreihen entscheiden, da nur jeweils eine einzige Probe jeder Sorte vermessen wurde.

Obwohl mit m/z 139 und m/z 154 auch die sensorische Qualität der untersuchten Öle Berücksichtigung findet, kann keine der beiden MS-Sensor-Methoden zur Klassifizierung der Öle bezüglich ihrer Aromaqualität dienen. Viele der für das Aroma äußerst wichtigen Spurenkomponenten, wie z. B. die geruchlich äußerst dominante Verbindung β -Damascenon, können unter den gegenwärtigen Meßbedingungen nicht in die Meßmethode einbezogen werden, da ihre Konzentration im Kopfraum unterhalb der Nachweisgrenze der statischen Headspace-Methode liegt. Die mangelnde Trennung der Klassen für bulgarisches und synthetisches Rosenöl, wie sie bei Verwendung des Sensorarrays 2 zu beobachten ist, macht dies deutlich. Aufgrund ähnlicher Werte für das Verhältnis isomerer Rosenoxide zu Monoterpenkohlenwasserstoffen (1 : 5,5 für das bulgarische Destillat bzw. 1 : 7,9 für die synthetische Mischung) zeigen die Klassen deutliche Überschneidung im Merkmalsraum, während die sensorische Bewertung der Öle sehr unterschiedlich ausfiel.

4. 2,4,6-Trichloranisol in Korkmaterial

4.1 Einleitung

Kork, das sekundäre Abschlußgewebe (Borke) der Korkeiche (*Quercus suber L.*), wurde bereits in der Antike zum Verschließen von Weinamporen verwendet [Kugler nach Plinius Secundus, 1993]. Daß auch heute noch die Mehrheit aller auf Flasche gezogenen Weine mit Naturkorken verschlossen werden [Lemperle, 1988], liegt zum einen an den vorteilhaften Eigenschaften des Korkmaterials wie z. B. Elastizität, geringer Gasdurchlässigkeit, Wasserundurchlässigkeit, Kompressibilität, Haltbarkeit und im allgemeinen Geschmacksneutralität [Simpson et al., 1986; Wiedemann, 1977; Lexikon der Biologie, 1984]. Zum anderen wird damit dem Wunsch des Verbrauchers Rechnung getragen, der mit dem Korkverschluß traditionellerweise u. a. gute Qualität des Weines verbindet [Hoffmann, 1992; Weyand E., 1987; Joubert, 1981].

Dennoch ist das Verschliessen von Wein mit Naturkorken nicht immer unproblematisch, da in manchen Fällen dessen Geschmacksneutralität nicht gegeben ist: Dann tritt im Wein der sogenannte Kork- oder Muffton auf, der nach Schätzungen von 1983 allein in Deutschland Weine im Gegenwert von jährlich 60 Millionen DM unbrauchbar macht bzw. in ihrer Qualität mindert [Heimann et al., 1983]. Obwohl nur etwa 2 % aller mit Kork verschlossenen Weine davon betroffen sind, entsteht dadurch ein beträchtlicher wirtschaftlicher Schaden.

Um eine effiziente technologische Methode zur Verhinderung des Korkgeschmacks entwickeln zu können (z. B. Autoklavierungsprozesse wie bei Rocha et al. (1996b) beschrieben), wurden daher in zahlreichen Untersuchungen versucht, die verursachenden Komponenten und deren Entstehung aufzuklären. Heute sind zwei, sich ergänzende Theorien allgemein anerkannt. Nach der ersten Hypothese geht man davon aus, daß die Komponenten des Korkgeschmacks durch chemische Reaktionen von Korkinhaltsstoffen mit bestimmten Chemikalien während der Korkbearbeitung entstehen. Im Laufe der Weinlagerung treten diese Verbindungen dann vom Korken in den Wein über. So geht Schanderl (1971) davon aus, daß bei der zur mikrobiellen Stabilisierung von Weinen und Korken angewendeten SO₂-Behandlung Schwefelwasserstoff und Mercaptane gebildet werden, die den Korkton verursachen. Tanner

und Zanier (1978, 1980) vermuten, daß dabei ebenfalls sensorisch aktive Methylthiopyrazine mit korkig-muffiger Fehlnote entstehen.

Bei der zweiten Hypothese geht man davon aus, daß der Korkton von der Aktivität korkeigener Mikroorganismen (u. a. die Pilzstämme vom Typ *Penicillium*, *Aspergillus*, *Monilia*, *Trichoderma*) herrührt [Lefebre et al., 1983; Schaeffer und Meyer, 1977; Marais und Kruger, 1975; Moreau, 1977; Moreau, 1978; Charpentier, 1977; Fleck, 1974; Davis et al., 1981; Daly et al., 1984; Köhler et al., 1993]. Heimann et al. (1983) vermuten, daß die vom Schimmelpilz *Penicillium roquefortii* produzierten, als Sesquiterpene identifizierten Verbindungen den Korkgeschmack verursachen. Guaiacol, von Lefebre et al. (1983) als Stoffwechselprodukt von *Streptomyces* identifiziert, wird von Amon et al. (1989) und Kugler (1993) als Korktonverursacher angesehen. Des weiteren wurden die sensorisch aktiven Verbindungen 1-Octen-3-on, Geosmin und 2-Methylisoborneol in verschimmelten Korken nachgewiesen [Kugler, 1993; Amon et al., 1989; Rocha et al., 1996a]. Auch das Auftreten von 2,4,6-Trichloranisol (TCA) wird als Folge des mikrobiellen Befalls angesehen [Lee und Simpson, 1993].

Es ist bekannt, daß TCA durch mikrobielle Methylierung von niedrig chlorierten Phenolen [Weiss et al., 1982; Crosby, 1981; Rott et al., 1979] gebildet wird. Diese niedrig chlorierten Phenole können wiederum selbst auf zwei verschiedene Arten entstehen. Zum einen kann Pentachlorphenol, welches man als Fungizid zum Schutz der Kork-eiche verwendet [Crosby, 1981], von Mikroorganismen durch Abspaltung von Chlor zu niedriger chlorierten Phenolen umgesetzt werden [Rott et al., 1979]. Zum anderen wird angenommen, daß durch die Behandlung von Korkmaterial mit Chlor bzw. Hypochlorit das Korkgerüst unter Ligninspaltung angegriffen wird und phenolische Spaltprodukte entstehen, die zu den entsprechenden Chlorphenolen abreagieren [Zehnder et al., 1984]. Nach Maujean et al. (1985) können *Penicillium*-Stämme die phenolischen Zwischenprodukte auch auf dem Pentosephosphatweg metabolisieren.

In jedem Falle aber entsteht mit 2,4,6-Trichloranisol eine Verbindung, der eine dominierende Bedeutung für den Korkton des Weines zugeschrieben wird [Buser et al., 1982; Maarse et al., 1985]: Mit einem Empfindungsschwellenwert von 1,4 ppt [Dürr, 1984] und einem Geschmacksschwellenwert von 4 ng/L [Amon et al., 1989] bis 10 ng/L [Whitfield et al., 1986; Tanner et al., 1981] in Weißwein und bis zu 50 ng/L in Rotwein [Tanner et al., 1981] verursachen bereits geringste Mengen von 2,4,6-Trichloranisol einen deutlichen Fehlgeschmack.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine Meßmethode auf Sensorbasis entwickelt, mit deren Hilfe Korkmaterial auf die Anwesenheit von 2,4,6-Trichloranisol hin untersucht werden kann.

4.2 Entwicklung der Meßmethode für den MS-Sensor

Zur Entwicklung einer Sensor-MS-Meßmethode, die den Nachweis von 2,4,6-Trichloranisol auf Korkmaterial erlaubt, wurde handelsübliches, einwandfreies Korkmaterial ohne Fehlgeruch als Referenzprobe herangezogen. Dieses wurde mit einer Handmühle grob vermahlen, anschließend mit flüssigen Stickstoff behandelt und mit Hilfe einer Kaffeemühle fein vermahlen. Das erhaltene Pulver wurde mit einem Siebgerät nach Korngrößen getrennt. Es wurden vier Fraktionen mit Teilchengrößen <250 µm, 250-500 µm, 500-1000 µm und >1000 µm erhalten. Die nachstehend beschriebenen Untersuchungen erfolgten mit Korkpulver der Teilchengröße 500-1000 µm, der mengenmäßig größten Fraktion. Weiterhin standen drei Korken mit Fehlgeruch zur Verfügung. Sie wurden von einem ortsansässigen Restaurant erhalten und stammten von Rotweinflaschen, deren Wein einen deutlichen Fehlgeschmack aufwies. Diese Korken wurden mit einer Handmühle grob vermahlen. HS-GC-FID-, HS-GC-MS- und Sensor-MS-Analysen wurden mit jeweils 400 mg Korkmaterial durchgeführt. Die Einstellung des Gas/Matrix-Verteilungsgleichgewichts erfolgte bei 135 °C während einer 180minütigen Thermostatisierungsphase.

4.2.1 Bestimmung der Headspace-Zusammensetzung

4.2.1.1 Nicht beanstandeter Korken

Mittels HS-GC-MS sowie HS-GC-FID wurde zunächst die qualitative und quantitative Zusammensetzung des Kopfraumgases über gemahlenem Korkmaterial ermittelt. 400 mg Korkpulver, Korngröße 500-1000 µm, wurde 180 Minuten bei 135 °C thermostatisiert. In Tabelle VI.22 sind die Anteile der flüchtigen Verbindungen am Kopfraumgas zusammengefaßt.

Tab. VI.22: %-Anteil der flüchtigen Inhaltsstoffe im Kopfraum über gemahlenem Korkmaterial

RI ^a	Verbindung	Anteil am Headspace (%)
400	Butan	30,43
500	Aceton	9,89
564	2,3-Butandion	S
644	Essigsäure	45,76
672	Hydroxyaceton	0,96
685	n.i.	0,49
803	Hexanal	0,45
817	Furfural	5,97
874	Ethylbenzol	S
896	2-Heptanon	0,31
902	Heptanal	0,34
952	5-Methylfurfural	0,99
990	6-Methyl-5-hepten-2-on	1,34
995	2-Pentylfuran	0,52
1005	Octanal	S
1038	Limonen	S
1040	2-Ethylhexanol	0,53
1102	Nonanal	0,69
1115	Dimethylglutarat	S
1159	Campher	S
1300	Tridecan	S
1305	Decanal	0,47
1355	δ -Elemen	S
1400	Tetradecan	S
1401	α -Copaen	S
1142	Geranylaceton	S
1454	β -Caryophyllen	0,86
1500	Pentadecan	S

^a Retentionsindizes auf Kapillarsäule DB-5

Wie aus Tab. VI.22 zu ersehen ist, wurde der Kopfraum über dem Korke dominiert von Essigsäure, Butan und Aceton. Ihr Auftreten ist auf die Temperaturbelastung des Korkmaterials zurückzuführen. Alle weiteren Verbindungen in Tab. VI.22 konnten bereits von Rocha et al. (1996a und 1996b) mittels SDE in Korkmaterial bzw. im Kochwasser von Korke [Kugler, 1993] nachgewiesen werden: Furfural und 5-Methylfurfural werden im Laufe der Thermostatisierung durch Hitzeabbau und Maillard-ähnliche Reaktionen aus Pentosen bzw. Hexosen gebildet. Außerdem werden bei 135 °C korkeigene Sesquiterpene wie β -Caryophyllen, β - und δ -Elemen und α -Copaen aus der Matrix ausgetrieben. Die homologen ungesättigten Aldehyde der Kettenlänge C_6 - C_{10} sind ebenso wie Pentylfuran vermutlich Autoxidationsprodukte ungesättigter Fettsäuren [Rocha et al., 1996a], welche frei in wachsartigen Schichten [Guillemonat, 1960] bzw. verestert im Suberin [Holloway, 1972] von Naturkork enthalten sind.

4.2.1.2 Beanstandeter Korke

Die Zusammensetzung des Kopfraumgases über beanstandetem Korke glich der über unbeanstandetem Material. Dies ergab die Untersuchung des Kopfraumgases über dem beanstandeten Korke Nr. 1 mittels HS-GC-FID. 2,4,6-Trichloranisol war darin nicht mit diesem Detektor nachweisbar. Ein ECD-Detektor, welcher einen empfindlicheren Nachweis von TCA ermöglicht hätte, stand nicht zur Verfügung.

4.2.2 Auswahl der Fragmentionen für das Sensor-Array

Das zum Nachweis von 2,4,6-Trichloranisol in Korkmaterial verwendete dreidimensionale Fragmentionen-Array setzte sich aus m/z 195, m/z 197 und m/z 210 zusammen. Es bestand damit ausschließlich aus Fragmentionen aus dem Spektrum von 2,4,6-Trichloranisol, deren Intensität in den Massenspektren der im Headspace über nicht kontaminierten Korke nachweisbaren flüchtigen Verbindungen gleich Null war.

4.2.3 Aufnahme des SIM-Profiles mittels HS-GC-MS

Drei Korke, die von Flaschen mit korkendem Wein stammten, wurden mittels HS-GC-MS im SIM-Verfahren vermessen. Bei allen drei Korke konnte 2,4,6-Trichloranisol im Headspace nachgewiesen werden. Die Mittelwerte der Peakflächen bzw.

Peakhöhen (Intensitäten) der TCA-typischen Fragmentionen m/z 195, m/z 197 und m/z 210 sind in den Tabellen VI.23 bzw. VI.24 aufgeführt.

Tab. VI.23: Peakflächen der Fragmentionen m/z 195, m/z 197 und m/z 210 für die beanstandeten Korken (HS-GC-MS, SIM), (10^3 Zählereignisse)

m/z	Korken Nr. 1 ^a	Korken Nr. 2 ^b	Korken Nr. 3 ^c
195	945 ± 47	660 ± 257	1100
197	878 ± 35	625 ± 218	1040
210	623 ± 43	436 ± 183	696

^a Mittelwert aus drei Messungen, ^b Mittelwert aus zwei Messungen, ^c eine Messung

Tab VI.24: Intensitäten der Fragmentionen m/z 195, m/z 197 und m/z 210 für die beanstandeten Korken (HS-GC-MS, SIM), (10^3 Zählereignisse)

m/z	Korken Nr. 1 ^a	Korken Nr. 2 ^b	Korken Nr. 3 ^c
195	2,48 ± 0,10	1,77 ± 0,57	2,99
197	2,38 ± 0,07	1,66 ± 0,56	2,91
210	1,63 ± 0,07	1,18 ± 0,41	1,97

^a Mittelwert aus drei Messungen, ^b Mittelwert aus zwei Messungen, ^c eine Messung

Die Werte für Peakflächen und Intensitäten der Fragmentionen m/z 195, m/z 197 und m/z 210 sind für verschiedene Korken deutlich unterschiedlich. Als Ursache hierfür kommt der unterschiedliche Vermahlungsgrad der Korken in Betracht, der sich bei der Handvermahlung des Materials ergibt. Möglicherweise rührt die Streuung aber auch daher, daß die Korken unterschiedlich stark mikrobiell befallen waren, so daß den einzelnen Korken unterschiedliche Mengen an 2,4,6-Trichloranisol anhafteten.

4.2.4 Sensormessungen und Mustererkennung

In den Tabellen VI.25 und VI.26 sind die normierten und nicht normierten Intensitäten der Fragmentionen m/z 195, m/z 197 und m/z 210 für die Messungen beanstandeter und nicht beanstandeter Korken einander gegenübergestellt. Ihre graphische Darstellung findet sich in den Abbildungen VI.15 und VI.16.

Tab. VI.25: Intensitäten^a von
m/z 195, m/z 197 und m/z 210
(HS-MS, SIM)

m/z	Korken, beanstandet	Korken, nicht beanstandet
195	182 ± 72	43 ± 3
197	165 ± 38	45 ± 3
210	119 ± 17	43 ± 3

^a Mittelwert aus 3 Messungen

Tab. VI.26: Normierte Intensitäten^a von
m/z 195, m/z 197 und m/z 210
(HS-MS, SIM)

m/z	Korken, beanstandet	Korken, nicht beanstandet
195	38,24 ± 6,60	33,00 ± 6,98
197	35,62 ± 3,36	34,25 ± 6,67
210	26,14 ± 3,78	32,75 ± 6,98

^a Mittelwert aus 3 Messungen

Aus Tabelle VI.25 bzw. VI.26 und den Abbildungen VI.12 bzw. VI.13 geht hervor, daß aufgrund des unterschiedlichen Intensitätsmusters die Klassen für beanstandete und nichtbeanstandete Korken sowohl mit und ohne Normierung der Intensitätswerte im Merkmalsraum trennbar sind. Augenfällig ist die starke Streuung der Meßwerte für beanstandetes Korkmaterial, die für den geringen Abstand der Cluster im normierten Fall verantwortlich ist.

Der Vergleich der Meßwerte von zeitaufgelöster und direkter Injektion des Kopfraumgases liefert ein stimmiges Bild: Korken Nr. 3, bei dem in der zeitaufgelösten Analyse die höchsten Werte für Intensität und Peakfläche zu beobachten waren, wies auch bei der Injektion des Headspace ohne Trennung die höchsten Meßwerte auf (Tab. VI.27).

Tab. VI.27: Intensitäten der Fragmentionen m/z 195, m/z 197 und m/z 210 (HS-MS, SIM)
(Zählereignisse)

m/z	Korken Nr. 1	Korken Nr. 2	Korken Nr. 3
195	170	117	260
197	192	122	182
210	133	100	125

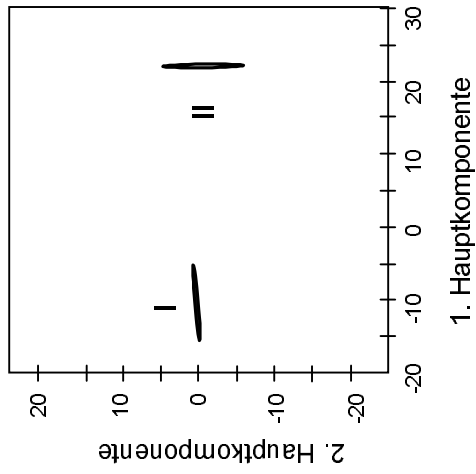


Abb. VI.12: Diskriminanzebene (Nicht normiertes Signalmuster)

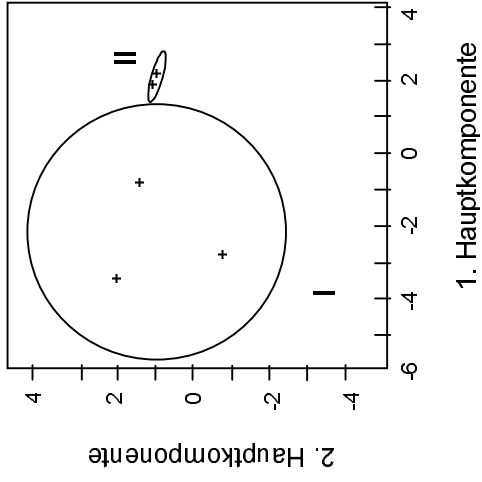
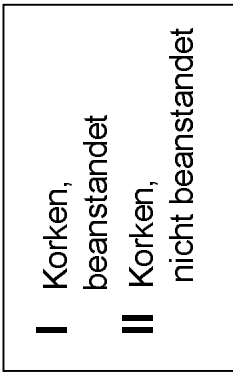


Abb. VI.13: Diskriminanzebene (Normiertes Signalmuster)

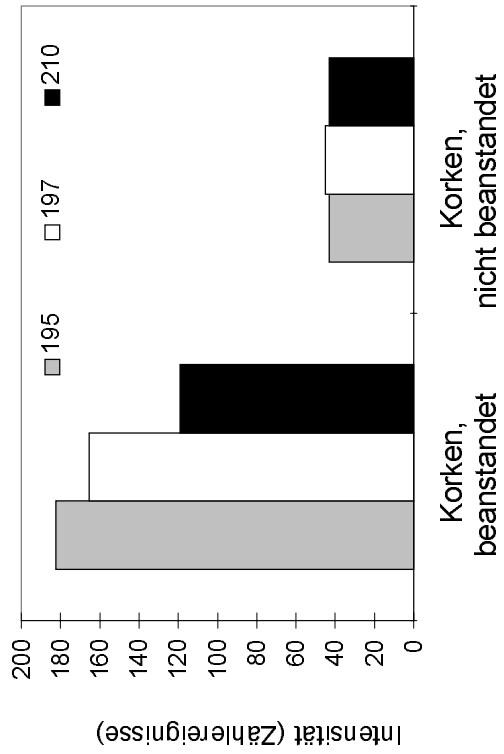


Abb. VI.14: Signalmuster

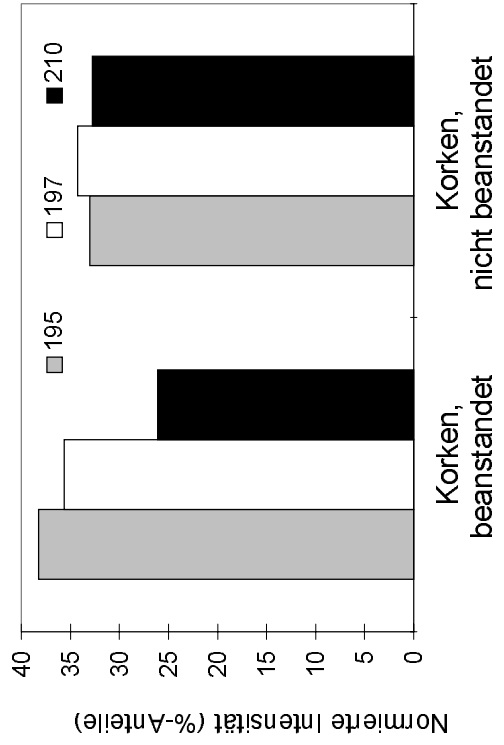


Abb. VI.15: Normiertes Signalmuster

4.3 Diskussion

Bei der Analyse geruchlich beanstandeter Korke konnte 2,4,6-Trichloranisol mittels HS-MS nachgewiesen werden; dabei wurden die Intensitäten der Fragmentionen m/z 195, m/z 197 und m/z 210 im Selected-Ion-Monitoring-Verfahren aufgezeichnet. Somit ist der Nachweis von TCA auf beanstandetem, vermutlich mikrobiell befallenen Korkmaterial mittels Direktinjektion/Mustererkennung grundsätzlich möglich. Die Anhaftung von 2,4,6-TCA am Probenmaterial konnte durch die Ergebnisse der durchgeführten HS-GC-MS-Untersuchungen bestätigt werden.

Verglichen mit klassischen analytischen Verfahren zum Nachweis des Mufftons in Korke konnte der Nachweis von 2,4,6-TCA mittels HS-MS in sehr kurzer Zeit erbracht werden. Die Aufzeichnung des Signalmusters nahm weniger als eine Minute in Anspruch, während die zeitaufgelösten gaschromatographischen Analysen ca. 1 Stunde dauerten. Außerdem war die Probenvorbereitung für die Headspace-Analyse wenig aufwendig; sie bestand lediglich im Mahlen und Einwiegen des Korkmaterials. Die Sensor-Massenspektrometrie wäre folglich gut dazu geeignet, Korkborke vor ihrer Weiterverarbeitung zu Weinverschlüssen routinemäßig auf Trichloranisol zu prüfen. Sie wäre damit weitaus besser zur Routinekontrolle im industriellen Einsatz geeignet als arbeitsintensive Extraktionsverfahren zum Auffinden von Korktonverursachern, wie sie beispielsweise von Kugler (1993) oder Rocha et al. (1996b) beschrieben wurden. Außerdem nimmt sie weniger Zeit in Anspruch als die von Fischer und Fischer (1997) vorgestellte Festphasenmikroextraktion.

Daß trotz der Fülle an flüchtigen Inhaltsstoffen des Kopfraumgases die selektive Erfassung von 2,4,6-TCA möglich war, ist ein weiterer positiver Aspekt des hier vorgestellten Meßverfahrens. Die niedrige Nachweisgrenze von $7,5 \mu\text{g}/1000 \text{ g}$ Kork (Binder, 1998), die für die HS-GC-MS-Analyse ermittelt wurde, läßt eine ähnlich empfindliche Detektion von TCA mittels HS-MS erwarten.

Einschränkend muß festgehalten werden, daß 2,4,6-Trichloranisol nicht alleiniger Verursacher des Korktons in Wein ist. So kommen, wie bereits eingangs erwähnt, u. a. die auf verschimmelter Korkborke nachweisbaren Verbindungen Geosmin, Guaiacol, 1-Octen-3-ol, 2-Methylisoborneol etc. als Korktonverursacher in Betracht. Um auch diese Verbindungen in die HS-MS-Screening-Methode einzubeziehen,

muß das Fragmentionen-Array um deren Fragmentierungsprodukte erweitert werden.

Abschließend sollte die Reproduzierbarkeit des Meßverfahrens kritisch beleuchtet werden. Die Streuung der Peakhöhen bzw. Peakflächen der SIM-Fragmentionen m/z 195, m/z 197 und m/z 210 in den HS-GC-MS-Untersuchungen war sehr groß, für einen der drei beanstandeten Korke lag die Standardabweichung der Meßsignale sogar bei ca. 33 %. Wenngleich die Streuung der Ionenintensitäten bei Direktinjektion des Headspaces weniger stark war, lag sie doch deutlich über den für die Headspace-Probenaufgabe typischen Werten von 2-5 %.

Als Ursache hierfür kommt einerseits die Probenvorbereitung selbst in Frage. Andererseits könnte sie auch durch tatsächliche Unterschiede in der dem Korken anhaftenden TCA-Menge bedingt sein. Zur Probenvorbereitung selbst ist zu sagen, daß das bei der Handvermahlung erhaltene Korkpulver Korngrößen zwischen 250 und 5000 μm enthielt. Um Verluste an 2,4,6-TCA durch weitere Aufarbeitungsschritte zu vermeiden, wurde bewußt auf das Sieben dieses inhomogenen Pulver verzichtet, es wurde direkt nach dem Mahlen in die Headspace-Vials überführt und vermessen. Unterschiede in der Korngrößenverteilung in einzelnen Flaschen könnten dazu führen, daß TCA in unterschiedlichem Ausmaß freigesetzt wurde.

Schließlich kommen als Ursache für die Schwankungen auch materialbedingte Faktoren in Betracht. Nach Kugler (1993) wirken sich die Dicke des Rohmaterials (Dieckmann, 1997) bei der Fertigung, die Stanzhöhe und die Oberflächenbeschaffenheit von Korke auf die qualitative und quantitative Zusammensetzung der nachweisbaren Inhaltsstoffe aus. Da die untersuchten beanstandeten Korke von Weinflaschen unterschiedlicher Hersteller entnommen wurden, kann man davon ausgehen, daß sie nicht aus derselben Fertigung stammen, so daß die Schwankungen der Ergebnisse tatsächlich auf die unterschiedliche Qualität der Gebrauchskorke zurückzuführen sein können. Es kann aber, wie bereits erwähnt, auch nicht ausgeschlossen werden, daß sich die Korke wegen verschieden starker mikrobieller Aktivität im Hinblick auf die anhaftende Menge an TCA unterscheiden. Da keine mikrobiologischen Untersuchungen durchgeführt wurden, läßt sich darüber nichts genaues sagen.

5. Differenzierung von Hopfensorten

5.1 Einleitung

Kulturhopfen, *Humulus lupulus*, gehört zur Familie der Cannabinaceae, Ordnung der Brennesselartigen (Urticales). Vegetativ vermehrte weibliche Pflanzen der zweihäusigen Hopfenpflanze werden in Hopfenkulturen angebaut, die Vor- und Nebenblätter ihrer unbefruchteten Blüten wachsen nach dem Verblühen zu sogenannten Dolden heran. Letztere werden von August bis September noch unreif geerntet und dienen als Grundstoff für die Bereitung von Bier. Reife, nicht befruchtete weibliche Blütenstände werden in der Pharmazie zur Herstellung eines sedierend wirkenden Tees verwendet. Mit einem Anteil von 35 % an der Weltjahresproduktion von 111 000 Tonnen ist Deutschland der bedeutendste Hopfenproduzent, gefolgt von den USA mit einem Anteil von 27 % an der Weltproduktion [Belitz und Grosch, 1992].

Die wertgebenden und brautechnologisch bedeutsamen Inhaltsstoffe, d. h. die ätherischen Öle und die Hopfenbitterstoffe, sind in den becherförmigen Drüsenhaaren enthalten. Daneben findet sich im Hopfen eine Vielzahl anderer Verbindungen mit physiologischen Eigenschaften wie sedativer, hypnogener, bakteriostatischer, antibiotischer, hormoneller und tuberkulostatischer Wirkung [Piendl und Schneider, 1981]. Abhängig von der absoluten Höhe des Alphasäuregehalts oder vom Verhältnis Alphasäure zu Gesamtharz teilt man die Hopfensorten generell in Aromasorten und Bitterstoffsorten ein [Schuster, 1992]. Aromahopfen, zu denen die Sorten Hersbrucker, Hallertauer Mittelfrüher, Tettlinger, Hüller und Spalter gehören, haben einen Alphasäuregehalt von jeweils ca. 33 %. Bitterstoffsorten wie Northern Brewer, Brewers Gold und Orion weisen dagegen einen Alphasäuregehalt von mehr als 40 % der Gesamtbitterstoffe auf. Das Verhältnis von Betasäuren zu Alphasäuren liegt für Aromahopfen bei 1,6 und für Bitterhopfen bei ≤ 1 . Zur Unterscheidung botanischer Sorten genügt diese grobe Einteilung jedoch nicht.

Die Sortendifferenzierung erfolgt einerseits anhand morphologischer, andererseits anhand chemisch erfaßbarer Merkmale. Hopfendolden unterschiedlicher botanischer Sorten unterscheiden sich in Größe und Form, in der Ausprägung der Doldenspindeln sowie in Form, Größe und Anordnung der Deckblätter [Esslinger, 1987;

Schmidt, 1963; Zattler 1968], diese sind daher morphologische Sortencharakteristika. Bei der Sortendifferenzierung anhand chemisch erfaßbarer Inhaltsstoffe stützt man sich dagegen auf die drei Stoffgruppen Bitterstoffe, Polyphenole und wasserdampf-flüchtige Inhaltsstoffe des Hopfenöls.

Bei den Bittersäuren, welche den Brauwert des Hopfens bestimmen, werden von vielen Autoren neben dem Verhältnis von Alpha- zu Betasäuren [Hautke und Petricek, 1967; Maier, 1969; Krauß, 1978; Narziß, 1980] auch die Anteile einiger der jeweils fünf Homologen von Alpha- (Humulon, Cohumulon, Ad-, Prä- und Posthumulon) und Betasäuren (Lupulon, Colupulon, Ad-, Prä-, und Postlupolon) als sortentypisch erachtet. Maier (1970) orientierte sich am Spektrum der Betasäuren, Nickerson et al. (1986) am Cohumulongehalt, während für Wackerbauer und Balzer (1988) das Verhältnis zwischen Cohumulon- und Colupulogehalt deutscher Hopfensortensorten das entscheidende Kriterium zur Sortenunterscheidung darstellte. Nach Sumere et al. (1988) ist die Stoffgruppe der Polyphenole ebenfalls zur Sortendifferenzierung geeignet, da unterschiedliche Sorten charakteristische Flavonoid-Muster aufweisen. Es ist weiterhin bekannt, daß Polyphenole im Aromahopfen in größeren Mengen vorkommen als im Bitterhopfen [Bellmer, 1975; Kretschmer, 1982].

Das sog. Hopfenöl umfaßt die Stoffgruppe der (wasserdampf-)flüchtigen Hopfeninhaltsstoffe. Verbindungen dieser dritten Gruppe scheinen ebenfalls geeignete Indikatoren zur Sortenerkennung zu sein, zumal gerade das Hopfenöl die aromawirksamen Verbindungen enthält. Es besteht zu ca. 70 % aus Terpenkohlenwasserstoffen und zu 30 % aus sauerstoffhaltigen Verbindungen [Pickett et al., 1975], wobei Myrcen in allen Sorten die dominierende Hauptkomponente ist. Es herrscht Einigkeit darüber, daß die Zusammensetzung des Hopfenöls genetisch determiniert ist [Zattler und Maier, 1966; Maier, 1966; Likens und Nickerson, 1967; Hautke und Petricek, 1973; Narziß et al., 1973], wenn auch – entgegen der Meinung von Maier (1988) - eine schlüssige und umfassende Einteilung der Hopfensorten in Bezug auf die qualitative und quantitative Verteilung der flüchtigen Inhaltsstoffe noch nicht allgemein anerkannt ist. Es gilt jedoch als gesichert, daß qualitativ hochwertige Aromasorten wie Hallertauer und die Sorten des Saazer-Formenkreises (Saazer, Spalter, Tettlinger) arm an Myrcen und reich an Sesquiterpenen sind [Maier, 1966; Gresser, 1985]. Letztere besitzen außerdem einen hohen Gehalt an Farnesen

[Maier, 1966; Naya und Kotake, 1972], während 2-Methyl-Butyl-Isobutyrat nur in geringen Mengen vorkommt [Maier, 1966; Gresser, 1985].

Mit der EG-Bezeichnungsverordnung von 1978, die die Kennzeichnung von Hopfen nach botanischen Sorten vorschreibt, trat auch ein generelles Mischverbot für gehandelten Naturhopfen in Kraft. Zum Nachweis gesetzeswidriger Vermischungen wird daher den eben beschriebenen analytisch erfaßbaren, sortentypischen chemischen Merkmalen große Bedeutung beigemessen. Bemühungen, eine analytische Methode zur Überprüfung der Sortenreinheit von Hopfen und Hopfenprodukten zu entwickeln, beruhten bisher auf der zeitaufgelösten gaschromatographischen [Maier, 1977a und 1977b; Seeleitner et al., 1985] bzw. HPLC-Trennung [Wackerbauer und Balzer, 1988] der Hopfeninhaltsstoffe. Die entwickelten Methoden sind bis dato jedoch nicht vollständig ausgereift.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde eine Methode zur Sortendifferenzierung von Naturhopfen entwickelt. Grundlage der Methode ist die selektive Erfassung von Fragmentationen sortentypischer flüchtiger Hopfeninhaltsstoffe.

5.2 Entwicklung der Meßmethode für den MS-Sensor

Es wurden Hopfendolden der Sorten Hallertauer Perle, Tettnanger und Nugget des Erntezeitraums September/Oktober 1997 untersucht, die von Hopfenanbietern des Anbaugebietes Hallertau im vollreifen Stadium geerntet und anschließend getrocknet worden waren. Für jede Sorte standen Proben aus drei unterschiedlichen Anbau-Standorten zur Verfügung. Die Aufbewahrung der Dolden erfolgte bei $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ in gasdicht verschweißten Polyethylen-Beuteln.

Zur HS-GC-FID-, HS-GC-MS- und HS-MS-Analyse wurden Dolden unterschiedlicher Sorten und Standorte mit Hilfe einer handelsüblichen Kaffeemühle jeweils fein vermahlen. Außerdem wurden drei sortenreine Mischproben hergestellt, indem gleiche Mengen von Hopfendolden derselben Sorte, aber unterschiedlicher Standorte gemeinsam vermahlen wurden. Die Analysen wurden mit jeweils 750 mg Hopfenpulver durchgeführt. Die Einstellung des Gas/Matrix-Verteilungsgleichgewichts wurde durch eine 45 minütige Thermostatisierung bei $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ erreicht.

5.2.1 Bestimmung der Headspacezusammensetzung

5.2.1.1 Headspacezusammensetzung der Mischproben

Die Ergebnisse der gaschromatographischen Untersuchungen der Mischproben wurden von Zeidler (1999) zur Verfügung gestellt. Es läßt sich folgendes festhalten: Der Kopfraum über Hopfenpulver setzt sich aus ca. 200 Verbindungen zusammen. In allen Sorten ist Myrcen die dominierende Hauptkomponente mit einem Anteil von 40-70 % an der Gesamtpeakfläche. Sehr leicht flüchtige Verbindungen mit $RI < 600$ machen insgesamt 10-30 % des Kopfraumgases aus. Da es sich hierbei um Artefakte handelt, die aufgrund thermischer Belastung während der Thermostatisierung des Hopfens entstehen, wurde auf die Identifizierung und Quantifizierung einzelner Inhaltsstoffe mit $RI < 600$ verzichtet. Von den Inhaltsstoffen mit $RI > 600$ sind mengenmäßig nur Myrcen (40-70 %), β -Caryophyllen (1-3 %), Humulen (1-3 %) und 2-Methylbutyl-Isobutytrat (1-2 %) bedeutsam.

Die Hopfeninhaltsstoffe, die als Grundlage für die Sortendiskriminierung herangezogen wurden, sind Nebenkomponenten mit Headspace-Anteilen $< 5\%$. Sie sind, zusammen mit den Hauptkomponenten des Kopfraumgases, in Tab. VI.28 aufgeführt. Es handelte sich dabei vorwiegend um Methyl- und Isobutylester von Carbonsäuren mit Kettenlängen im Bereich C_3 - C_{10} . Daneben wurden die bicyclischen Monoterpene Sabinen, α -Pinen und β -Pinen sowie die acyclischen Monoterpene β -Ocimen und Linalool miteinbezogen. Sie sind in Tab. VI.28 hervorgehoben.

Statistisch signifikante Unterschiede der Gasphasenkonzentrationen über den Mischproben unterschiedlicher Hopfensorten gaben den Ausschlag für die Auswahl der oben erwähnten Verbindungen als Sortenindikatoren.

Tab. VI.28: Ausgewählte Bestandteile des Kopfraumgases über Hopfenpulver der Sorten Perle, Tettninger und Nugget (Angaben in %-Anteilen bezogen auf die Gesamtpeakfläche), nach Zeidler (1999)

RI ^a	Verbindung	Perle	Tettn.	Nugget
742	4-Methyl-2-Pentanon	n.b.	n.b.	n.b.
913	Isobutyl-Isobutanoat	0,66	0,05	0,55
944	β-Pinen	0,42	0,34	0,31
972	2-Methyl-Butyl-Propanoat	0,22	0,02	0,32
987	β-Pinen	2,22	1,65	1,92
992	Sabinen	n.b. ^b	n.b. ^b	n.b. ^b
992	Myrcen ^c	n.b.	n.b.	n.b.
1011	3-Methyl-Butyl-Isobutanoat	0,37	0,06	0,92
1015	2-Methyl-Butyl-Isobutanoat	1,09	0,11	1,84
1024	Methyl-Heptanoat	0,46	0,31	0,40
1028	Methyl-4-Methyl-2-Hexenoat	n.b.	n.b.	n.b.
1051	β-Ocimen	0,87	0,02	0,69
1087	Me-6-Me-Heptanoat	0,03	0,14	0,003
1101	Linalool	0,12	0,15	0,30
1103	Methyloctanoat	n.b. ^b	n.b. ^b	n.b. ^b
1309	Methyl-4-Z-Decenoat	0,06	0,12	0,17
1326	Methyl-E-Geranat	0,03	0,02	0,02
1451	β-Caryophyllen	1,91	0,80	1,63
1486	Humulen	4,12	1,90	2,51

^a Retentionsindizes auf Kapillarsäule DB-5

^b nicht bestimmt da nicht aufgelöst

^c Hauptkomponente

5.2.1.2 Headspacezusammensetzung der Einzelproben

Eine verlässliche Sortenabgrenzung auf Basis der in Tabelle VI.28 hervorgehobenen Inhaltsstoffe ist nur dann gewährleistet, wenn die durch Klima und Bodeneinflüsse verursachten Schwankungen der Gasphasenkonzentrationen kleiner sind als jene, welche durch die Sortenzugehörigkeit bedingt sind. Ob dies für die Sorten Perle, Tettninger und Nugget gewährleistet war, wurde mittels HS-GC-FID untersucht. Zu diesem Zweck wurden für jeden der drei Standorte aller Hopfensorten jeweils fünf HS-GC-FID-Analysen durchgeführt. Die Standardabweichungen der Peakflächen

der als Sortenindikatoren ausgewählten Hopfeninhaltsstoffe sind in Tab. VI.29 dargestellt. Die Daten wurden von Zeidler (1999) zur Verfügung gestellt. Jeder Wert nimmt bezug auf den Mittelwert der Peakfläche, der aus allen 15 Messungen einer Sorte berechnet wurde.

Wie aus Tab. VI.29 deutlich wird, lagen die durch Standortbedingungen bedingten Schwankungen der Sortenindikatoren zwischen 2,9 % und 88,4 %. Mit einer meßtechnisch bedingten Schwankung von 3 %¹ sind die Schwankungen der absoluten Konzentrationen innerhalb einer Sorte jedoch insgesamt deutlich kleiner als die Unterschiede zwischen den untersuchten Sorten.

Tab. VI.29: Standardabweichungen der Peakflächen sortentypischer Inhaltsstoffe, drei Standorte je Sorte (Angaben in % bezogen auf den Mittelwert aus 15 Messungen), nach Zeidler (1999)

Verbindung	Perle	Tettn.	Nugget
4-Methyl-2-Pentanon	n.b.	n.b.	n.b.
Isobutyl-Isobutanoat	29,9	88,4	19,8
α -Pinen	4,7	11,8	9,5
2-Methyl-Butyl-Propanoat	18,2	104,9	12,2
β -Pinen	7,6	10,8	7,3
Sabinen	n.b. ^b	n.b. ^b	n.b. ^b
3-Methyl-Butyl-Isobutanoat	17,4	46,8	2,9
2-Methyl-Butyl-Isobutanoat	20,9	72,6	11,5
Methyl-Heptanoat	21,0	14,8	19,7
Methyl-4-Methyl-2-Hexenoat	n.b. ^b	n.b. ^b	n.b. ^b
β -Ocimen	22,0	66,5	14,3
Me-6-Me-Heptanoat	14,3	45,8	34,8
Linalool	22,7	34,6	2,9
Methyloctanoat	n.b. ^b	n.b. ^b	n.b. ^b
Methyl-4-Z-Decenoat	24,7	36,8	10,6
Methyl-E-Geranat	24,4	66,7	58,9
β -Caryophyllen	17,1	49,0	16,3
Humulen	18,6	50,9	14,6

^a Retentionsindizes auf Kapillarsäule DB-5, ^b nicht bestimmt da nicht aufgelöst

¹ ermittelt durch zehnmahlige Wiederholungsmessung der gleichen Probe

5.2.2 Auswahl der Fragmentionen für das Sensor-Array

Die zur Sortendifferenzierung verwendeten Fragmentionen mußten zwei Voraussetzungen erfüllen. Zum einen mußten sie Fragmentierungsbruchstücke derjenigen Hopfeninhaltsstoffe sein, die im Rahmen der HS-GC-FID-Untersuchungen als mögliche Sortenindikatoren identifiziert wurden. Ihre relative Intensität im Massenspektrum dieser Sortenindikatoren sollte 5 % übersteigen. Zum anderen durfte es sich dabei nicht um Fragmentierungsprodukte der Hauptkomponente Myrcen handeln. Vor allem die letztgenannte Anforderung schränkte die Anzahl möglicher Sensoren stark ein. Sie war jedoch zwingend erforderlich, um einerseits die erforderliche Spezifität der Meßmethode zu gewährleisten. Andererseits sollte so die Überladung des massenspektrometrischen Detektionssystems verhindert werden, die die Erfassung von Myrcen-Fragmenten mit sich bringen würde.

Das Array zur Sortendifferenzierung setzte sich aus den zwölf Fragmentionen m/z 100, m/z 101, m/z 106, 110, m/z 111, m/z 112, m/z 114, m/z 115, m/z 127, m/z 137, m/z 139 und m/z 142 zusammen. Die Messung der Intensitäten bei Direktinjektion erfolgte im SIM-Modus.

5.2.4 Aufnahme des SIM-Profiles mittels HS-GC-MS

Aufschluß darüber, inwieweit mit den gewählten Fragmentionen eine Differenzierung der Hopfensorten auf der Basis der Konzentrationsunterschiede von Sortenindikatoren stattfindet oder ob Inhaltsstoffe, die nicht als sortentypisch erachtet werden, einen maßgeblichen und unerwünschten Einfluß auf das Signalmuster der Sensormessungen nehmen, gaben HS-GC-MS-Untersuchungen im SIM-Verfahren.

Die Ergebnisse der Analysen sind in Tab. VI.30 aufgeführt. Die Sortenindikatoren zeichneten für 95-48 % der Peakflächensummen einzelner Fragmentionen verantwortlich. Nicht sortentypische Verbindungen besaßen nur in 5 von 36 Messungen Peakflächenanteile von mehr als 40 %, in der Mehrheit betrug ihre Anteile 17-35 % an der Gesamtpeakfläche. Den absolut gesehen höchsten Anteil an der Peakflächensumme besaßen nicht sortentypische Komponenten in Mischproben der Sorte Nugget. Er betrug 51,9 % für das Fragmention m/z 112. Keinerlei Einfluß nicht sortencharakteristischer Komponenten waren für m/z 142 in Proben der Sorte Tettanger sowie für m/z 114 in Proben der Sorte Perle feststellbar.

Tab. VI.30: %-Anteile an der Peakflächensumme für Fragmentationen m/z 100, 101, 106, 110, 111, 112, 114, 115, 127, 137, 139, 142, (HS-GC-MS, SIM)

	Verbindung	Perle ^a	Tettn. ^a	Nugget ^a
m/z 100	4-Methyl-2-Pentanon	26,3	78,4	42,0
	2-Methyl-Butyl-Isobutanoat	28,7	-	23,8
	Sonstige	45,1	21,6	34,2
m/z 101	4-Methyl-2-Pentanon	-	7,5	-
	Isobutyl-Isobutanoat	23,3	4,7	19,2
	2-Methyl-Butyl-Isobutanoat	32,9	4,7	39,4
	Methyl-Heptanoat	26,0	42,7	7,5
	Sonstige	17,8	40,5	33,9
m/z 106	β -Caryophyllen	12,4	15,2	10,0
	Humulen	21,6	21,5	20,1
	Sabinen	54,7	18,3	53,8
	β -Ocimen	0,3	-	1,5
	Sonstige	11,0	45,0	14,6
m/z 110	Methyl-4-Methyl-2-Hexenoat	40,6	56,9	35,9
	Sabinen	13,4	-	12,1
	Methyl-4-Z-Decenoat	9,8	20,3	24,4
	β -Caryophyllen	12,4	5,9	8,9
	Humulen	23,8	11,7	10,5
	Sonstige	-	5,3	8,2
m/z 111	Methyl-4-Methyl-2-Hexenoat	53,0	42,8	49,7
	Me-6-Me-Heptanoat	11,1	10,5	13,8
	Linalool	3,1	5,3	8,4
	β -Caryophyllen	15,5	4,9	11,6
	Humulen	11,1	4,3	7,6
	Sonstige	6,2	32,3	9,0
m/z 112	Methyl-4-Methyl-2-Hexenoat	100,0	57,0	48,1
	Sonstige	-	43,0	51,9
m/z 114	Isobutyl-Isobutanoat	19,0	-	13,4
	Sabinen	15,1	-	13,0
	Methyl-Heptanoat	36,6	44,7	30,7
	Methyl-4-Methyl-2-Hexenoat	14,7	23,0	11,3
	Methyl-4-Z-Decenoat	-	10,9	10,5
	Methyl-E-Geranat	14,5	11,7	8,4
	Sonstige	-	9,7	12,6

Fortsetzung Tab. VI.30: %-Anteile an der Peakflächensumme für Fragmentionen m/z 100, 101, 106, 110, 111, 112, 114, 115, 127, 137, 139, 142 (HS-GC-MS, SIM)

	Verbindung	Perle ^a	Tettn. ^a	Nugget ^a
m/z 115	2-Methyl-Butyl-Isobutanoat	4,0	-	15,7
	Methyl-Heptanoat	5,7	13,2	6,2
	Sabinen	12,9	23,8	44,3
	Me-6-Me-Heptanoat	4,8	15,3	5,8
	β-Caryophyllen	4,6	5,5	2,6
	Humulen	5,6	7,7	3,0
	Sonstige	25,5	34,5	22,4
m/z 127	Methyl-4-Methyl-2-Hexenoat	55,3	71,0	32,6
	Sabinen	12,9	-	8,2
	Me-6-Me-Heptanoat	14,4	21,2	13,7
	Methyl-4-Z-Decenoat	-	-	3,5
	Sonstige	17,4	7,8	42,0
m/z 137	β-Pinen	9,2	29,2	9,3
	Sabinen	85,8	44,0	82,9
	Sonstige	5,1	26,8	7,8
m/z 139	Linalool	11,1	14,0	12,8
	Methyl-E-Geranat	30,0	7,4	5,5
	Sonstige	58,9	78,2	81,7
m/z 142	Methyl-4-Methyl-2-Hexenoat	83,99	65,0	100
	Sonstige	16,01	35,0	-

^a Mischproben aus Hopfen dreier Standorte, Mittelwert aus 3 Messungen

5.2.4 Sensormessungen und Mustererkennung

Sensor-MS-Messungen wurden sowohl mit Mischproben als auch mit Einzelproben unterschiedlicher Standorte durchgeführt. Die Meßmethode umfaßte die Erfassung der zwölf Fragmentionen m/z 100, m/z 101, m/z 106, m/z 110, m/z 111, m/z 112, m/z 114, m/z 115, m/z 127, m/z 137, m/z 139 und m/z 142 im SIM-Modus. Zur Mustererkennung mittels Hauptkomponentenanalyse wurden die normierten Signalintensitäten herangezogen.

Tabelle VI.31.1 und VI.31.2 fassen die Resultate der HS-MS-Untersuchungen der Mischproben zusammen. In den Tabellen VI.32, VI.33 und VI.34 sind die Ergebnisse aufgeführt, die bei den Untersuchungen der Einzelproben unterschiedlicher Standorte erzielt wurden.

Tab. VI.31.1: Normierte Intensitäten der Signalhöhen, HS-MS (SIM), Mischproben

m/z	Perle	Tettn.	Nugget
100	2,67	11,67	2,91
101	15,53	14,96	16,41
106	30,01	18,55	27,09
110	5,58	9,48	6,00
111	4,74	9,41	4,83
112	1,38	3,27	1,46
114	2,12	2,90	1,79
115	16,96	11,17	18,06
127	4,03	6,52	4,78
137	14,58	8,17	14,80
139	0,69	1,31	0,68
142	1,31	2,58	1,19

Tab. VI.31.2: Absolute Intensitäten der Signalhöhen, HS-MS (SIM), Mischproben
[Zählereignisse]

m/z	Perle	Tettn.	Nugget
100	2283	9949	5087
101	23260	9328	36705
106	37814	11200	43468
110	6372	4838	8991
111	4838	6624	6658
112	330	581	771
114	1460	1027	2379
115	19675	6800	27646
127	3949	3109	7429
137	13090	3754	19528
139	574	855	690
142	1124	1598	1119

Tab. VI.32: Normierte Intensitäten der Signalhöhen für Hopfen der Sorte Perle, geordnet nach Standorten, rel. Stdabw.

m/z	Perle 1	Perle 2	Perle 3
100	2,40 ± 0,11	2,51 ± 0,08	3,11 ± 0,17
101	16,56 ± 0,45	14,37 ± 0,28	15,67 ± 0,30
106	29,83 ± 0,41	31,20 ± 0,38	29,01 ± 0,37
110	5,47 ± 0,25	5,73 ± 0,19	5,54 ± 0,19
111	4,63 ± 0,21	4,87 ± 0,16	4,72 ± 0,13
112	1,36 ± 0,03	1,43 ± 0,06	1,35 ± 0,08
114	2,12 ± 0,09	2,04 ± 0,04	2,21 ± 0,11
115	17,16 ± 0,35	16,89 ± 0,39	16,83 ± 0,26
127	3,94 ± 0,15	4,01 ± 0,17	4,14 ± 0,14
137	13,49 ± 1,52	14,93 ± 0,39	15,33 ± 0,90
139	0,66 ± 0,03	0,68 ± 0,05	0,72 ± 0,05
142	1,21 ± 0,07	1,34 ± 0,05	1,38 ± 0,05

Tab. VI.33: Normierte Intensitäten der Signalhöhen für Hopfen der Sorte Nugget, geordnet nach Standorten, rel. Stdabw.

m/z	Nugget 1	Nugget 2	Nugget 3
100	3,31 ± 0,05	2,77 ± 0,10	2,64 ± 0,09
101	18,25 ± 0,52	16,74 ± 0,27	14,25 ± 0,49
106	25,79 ± 0,57	26,96 ± 0,24	28,52 ± 0,71
110	6,16 ± 0,66	5,64 ± 0,25	6,21 ± 0,45
111	4,99 ± 0,21	4,69 ± 0,16	4,82 ± 0,17
112	1,51 ± 0,12	1,40 ± 0,03	1,48 ± 0,06
114	1,88 ± 0,06	1,71 ± 0,06	1,77 ± 0,05
115	17,66 ± 0,30	18,18 ± 0,37	18,33 ± 0,42
127	4,92 ± 0,27	4,68 ± 0,15	4,75 ± 0,13
137	13,72 ± 0,93	15,43 ± 0,60	15,25 ± 0,61
139	0,67 ± 0,05	0,65 ± 0,03	0,71 ± 0,05
142	1,14 ± 0,05	1,14 ± 0,03	1,28 ± 0,05

Tab. VI.34: Normierte Intensitäten der Signalhöhen für Hopfen der Sorte Tettnanger, geordnet nach Standorten, rel. Stabw.

m/z	Tettnanger 1	Tettnanger 2	Tettnanger 3
100	12,46 ± 0,18	12,52 ± 0,41	10,03 ± 0,39
101	15,96 ± 0,29	13,40 ± 0,24	15,52 ± 0,53
106	16,73 ± 0,16	19,03 ± 0,41	19,89 ± 0,64
110	9,18 ± 0,14	10,17 ± 0,43	9,10 ± 0,25
111	9,46 ± 0,11	9,94 ± 0,15	8,83 ± 0,22
112	3,36 ± 0,08	3,47 ± 0,10	2,99 ± 0,08
114	3,10 ± 0,08	2,69 ± 0,03	2,90 ± 0,08
115	10,92 ± 0,19	10,48 ± 0,10	12,12 ± 0,35
127	6,45 ± 0,14	7,03 ± 0,15	6,09 ± 0,10
137	8,49 ± 0,38	7,02 ± 0,11	9,00 ± 0,69
139	1,39 ± 0,07	1,30 ± 0,05	1,25 ± 0,09
142	2,51 ± 0,09	2,95 ± 0,08	2,30 ± 0,12

Interessante Ergebnisse erschließen sich aus den Sensor-MS-Messungen. Die normierten Signalmuster der Sorten Hallertauer Perle und Nugget zeigen weitestgehend Übereinstimmung. Allerdings hebt sich das Intensitätsmuster der Sorte Tettnanger deutlich von dem der beiden anderen Sorten ab. Die normierten Intensitäten der Sensoren m/z 100, m/z 110, m/z 111, m/z 112, m/z 127 und m/z 142 sind signifikant höher, die der Sensoren m/z 106, m/z 115 und m/z 137 niedriger als in den Sorten Perle und Nugget (Abb. V.16).

Höhere Signalintensitäten der Fragmentionen m/z 100 und m/z 110, wie sie für Proben der Sorte Tettnanger ermittelt wurden, lassen sich plausibel mit einem höheren Anteil an 4-Methyl-2-Pentanone erklären. Trotz vergleichbarer Gehalte an Methyl-4-Methyl-2-Hexenoat sind die normierten Signalintensitäten der Sensoren m/z 112 und m/z 142 bei Tettnanger-Proben größer als bei Proben der Sorten Perle und Nugget. Für m/z 142 ist dies durch den Beitrag nicht sortentypischer Hopfeninhaltsstoffe erklärbar, für m/z 112 ist dies das Resultat der durchgeführten Normierung. Für die vergleichsweise hohen normierten Signale der Fragmentionen m/z 111 und m/z 127 gibt es zweierlei Gründe. Zum einen ist der höhere Gehalt an Methyl-6-Methyl-Heptanoat

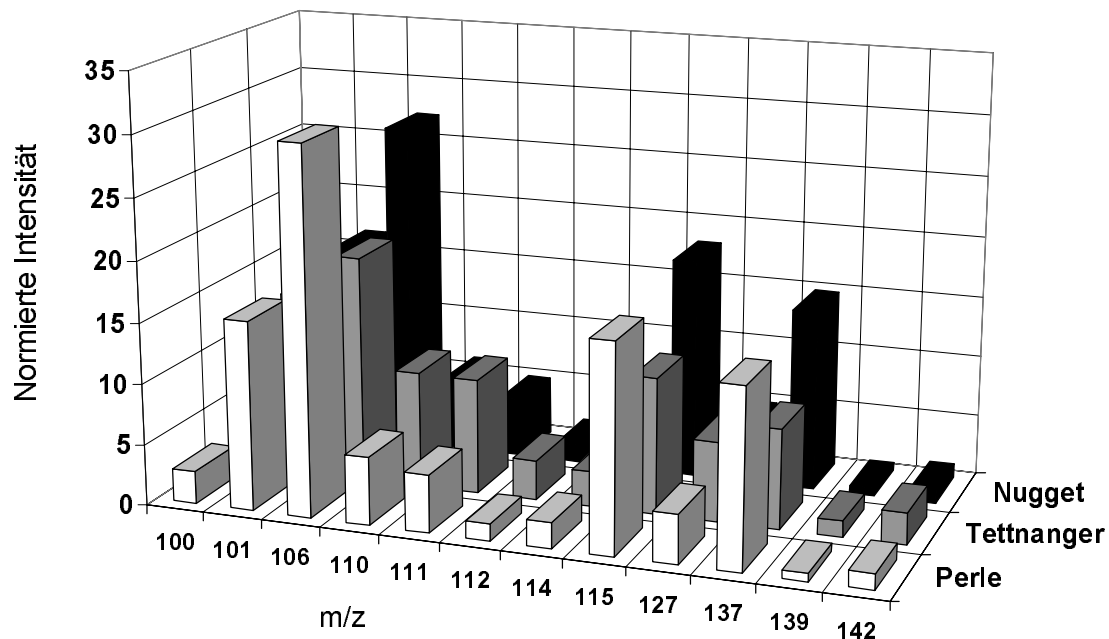


Abb. VI.19 Normierte Signalmuster der Hopfensorten Perle, Tettnanger und Nugget, Mischproben (HS-MS, SIM)

dafür verantwortlich, zum anderen tragen nicht sortentypische Inhaltsstoffe in beachtlicher Weise zum Signal bei.

Obwohl die Signalmuster der Sorten Perle und Nugget bei oberflächlicher Betrachtung sehr ähnlich erscheinen, wird bei näherer Betrachtung erkennbar, daß die normierten Intensitäten der Fragmentionen m/z 106 und m/z 142 für Proben der Sorte Perle höher sind als für Proben der Sorte Nugget. Im Fall des Sensors m/z 106 ist dies auf den höheren Gehalt an Humulen in der Sorte Perle zurückzuführen. Für m/z 114 ist dies die unmittelbare Folge der durchgeführten Normierung, da trotz des niedrigen Absolutwertes des für Perle gemessenen Sensorsignals (Tab. VI.31.2) aufgrund der insgesamt kleineren Signalsumme dieser Sorte gerade m/z 114 eine starke Gewichtung im Signalmuster erfährt. Der niedrige Absolutwert der Intensität des Ions m/z 114 läßt sich durch niedrigere Gehalte an Methyl-Heptanoat und Iso-butyl-Isobutanoat erklären.

Standortbedingte Schwankungen des Signalmusters von Proben derselben Sorte liegen bei 5-7 %.

Werden die nach einzelnen Standorten aufgeschlüsselten Hopfensorten mit Hilfe der Hauptkomponentenanalyse als Datencluster auf der Diskriminanzebene dargestellt, ergibt sich folgendes Bild: Signalvektoren von Proben derselben Sorte sind in jeweils engen Bereiche der Diskriminanzebene zu finden. Die von unterschiedlichen Sorten besetzten Bereiche des Merkmalsraums sind in der zweidimensionalen Darstellung als voneinander getrennt wahrnehmbar (Abb. VI.17 und Abb. VI.18). Die Ähnlichkeit der Signalmuster der Sorten Perle (P1, P2, P3) und Tettnanger (T1, T2, T3) bedingt die räumliche Nähe ihrer Cluster auf der Diskriminanzebene. Verlässliche Aussagen über die Möglichkeit zur Diskriminierung der Sorten Perle (P1, P2, P3), Tettnanger (T1, T2, T3) und Nugget (N1, N2, N3) mit Methoden der Sensor-Massenspektrometrie erhält man, indem alle durchgeführten Messungen einer Sorte zu einer Klasse zusammengefaßt werden. Die durch Ellipsen eingegrenzten Bereiche stellen sich als klar getrennte Cluster dar (Abb. VI.19).

Sieht man von Ausnahmen ab, scheint auch die Differenzierung einzelner Standorte derselben Sorte möglich. In Anbetracht dessen, daß sich neben der Probenvorbereitung im analytischen Labor auch die Bedingungen der Trocknung und Lagerung auf die Verteilung der Hopfeninhaltsstoffe in den untersuchten Proben auswirken, sollte dieses Resultat jedoch nur unter Vorbehalt auf den Einfluß standorttypischer Faktoren wie Bodenbeschaffenheit, Witterung etc. zurückgeführt werden.

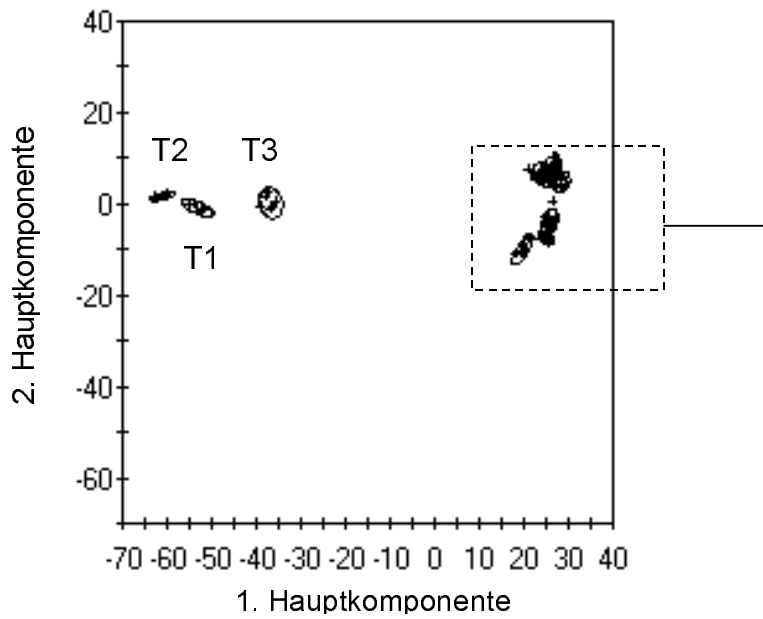


Abb. VI.17 Diskriminanzebene der Sorten Perle, Tettnanger und Nugget, aufgeschlüsselt nach Standorten

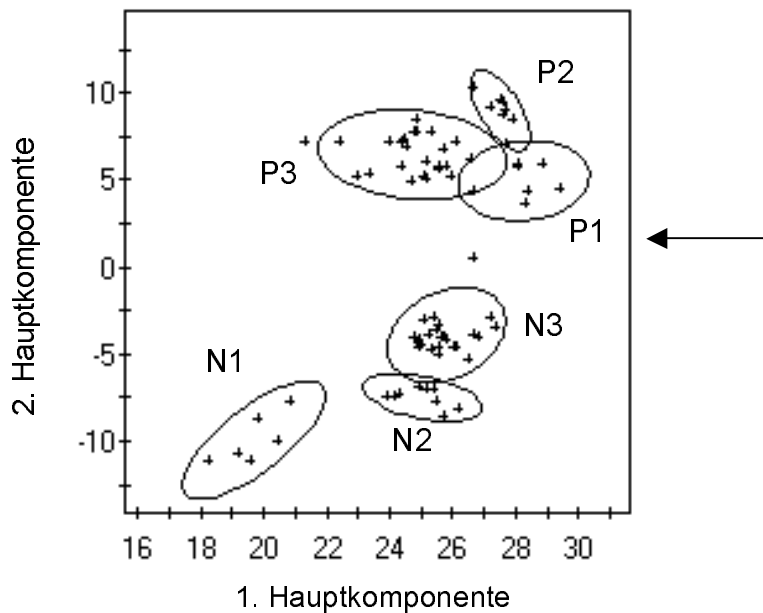


Abb. VI.18 Ausschnittsvergrößerung der Diskriminanzebene Abb. V.20

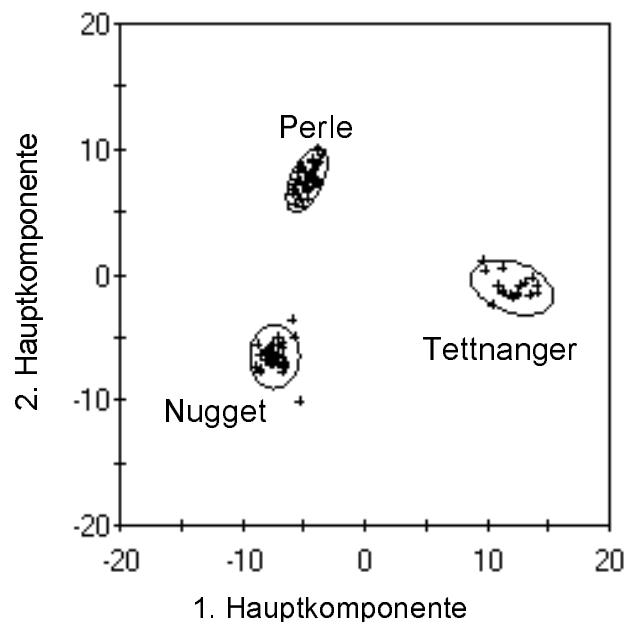


Abb. VI.19 Diskriminanzebene der Sorten Perle, Tettninger und Nugget

5.3 Diskussion

Die Sortendiskriminierung von Hopfen der Sorten Hallertauer Perle, Tettninger und Hallertauer Nugget mit Methoden der Sensor-Massenspektrometrie konnte durchgeführt werden. Dabei wurden im Rahmen von HS-MS-Messungen die Intensitäten von zwölf Fragmentationen im Selected-Monitoring-Verfahren aufgezeichnet und mittels Hauptkomponentenanalyse ausgewertet. Die Auswahl der Sensoren erfolgte nach statistischen Gesichtspunkten. Die Fragmentationen m/z 100, m/z 101, m/z 106, m/z 110, m/z 111, m/z 112, m/z 114, m/z 115, m/z 127, m/z 137, m/z 139 und m/z 142 sind charakteristische Fragmentierungsbruchstücke flüchtiger Hopfeninhaltsstoffe, die sich im Rahmen von HS-GC-FID-Untersuchungen als geeignete Sortenindikatoren erwiesen haben. Es handelt sich dabei um Methyl- und Isobutyl-Ester von Carbonsäuren mit Kettenlängen im Bereich C_3 - C_{10} sowie Sabinen, α -Pinen, β -Pinen, β -Ocimen und Linalool.

Das vorgestellte Meßverfahren ist die aktuellste Studie einer Reihe von Untersuchungen zur Unterscheidung von Hopfensorten anhand der Zusammensetzung und Ausprägung ihrer etherischen Öle [u. a. Rigby und Bethune, 1955; Howard, 1957, Howard und Slater, 1957; Buttery et al., 1964; Maier, 1966; Maier, 1977a und 1977b;

Naya und Kotake, 1971; Naya und Kotake, 1972; Weihrauch, 1976; Tressl et al., 1983; Gresser, 1985; Seeleitner et al., 1985; Narziß et al., 1985; Narziß et al., 1986]. Besonders erwähnenswert ist in diesem Zusammenhang ein von Freundorfer (1990) vorgeschlagenes, rechnergestütztes Verfahren, das die Identifikation von Hopfensorten auf Basis der flüchtigen Aromastoffe ermöglicht. Als Anwendungsbereich wird die Sortenerkennung bei Naturhopfen [Freundorfer, 1988; Freundorfer et al., 1991a], sowie bei Pellets und Ethanol- bzw. CO₂-Extrakten [Freundorfer et al., 1991b] diskutiert. Die von Freundorfer veröffentlichte und die in der vorliegenden Arbeit ausgearbeitete Meßmethode besitzen einige Gemeinsamkeiten. So erfolgt die Untersuchung des Naturhopfens in beiden Fällen mit statischer Headspace-Technik in Verbindung mit multivariaten Verfahren, auch wenn Freundorfer lediglich die gaschromatographischen Daten mittels Mustererkennung auswertet. Teilweise Übereinstimmung herrscht bei den Verbindungen, die als sortentypisch erachtet werden. So kommt auch Freundorfer zu dem Ergebnis, daß 2-Methylisobutyrat aufgrund seiner geringen Ausprägung in Sorten des Saazer Formenkreises (u. a. Tettninger) als Sortenindikator geeignet ist. Dies wurde erstmals 1966 von Maier vermutet und wurde von Gresser (1985) bestätigt. Ebenfalls als Sortenindikatoren geeignet sind trans- β -Ocimen und Linalool, die aufgrund ihrer typischen Ausprägungen in der Sorte Perle bedeutsame Markersubstanzen sind. Der niedrige Gehalt von Linalool im Hopfenöl der Sorte Tettninger als charakteristisches Merkmal dieser Sorte wurde bereits von Zattler (1966) gefunden. Ein erster Hinweis darauf, daß Gehalt und Zusammensetzung der gesamten Esterfraktion des Hopfenöls Hilfestellungen bei der Sortenzuordnung etherischer Öle geben können, wurde bereits 1985 von Narziß et al. gegeben. Die Rolle von β -Caryophyllen und Humulen bei der Sortenidentifizierung wurde bereits in verschiedenen Publikationen erwähnt [Forster, 1994; De Keukeleire, 1998].

Die Lektüre der soeben erwähnten Veröffentlichungen bestätigt, daß die im Rahmen der durchgeführten Untersuchungen gewählten Hopfeninhaltsstoffe echte Sortenmarker darstellen und untermauert so die Aussagekraft der entwickelten Sensor-MS-Methode. Sie zeigt jedoch auch eine Schwachstelle der HS-MS-Methode, nämlich die Einschränkung potentieller Sensoren durch den Verzicht auf Myrcen-Fragmente. So mußte wegen der Ähnlichkeit der Massenspektren beider Verbindungen beispielsweise darauf verzichtet werden, den literaturbekannten Sortenindikator Farnesen [Buttery et al., 1964, Maier, 1966; Zattler, 1966; Naya und Kotake, 1972; Weihrauch, 1976] einzubeziehen.

Die scheinbar mögliche Differenzierung unterschiedlicher Standorte mittels Direktinjektion/Mustererkennung sollte mit Vorsicht betrachtet werden. Alle Versuche, den Einfluß des Standorts auf die Konzentration ausgewählter flüchtiger Inhaltsstoffe des Hopfenöls nachzuweisen, waren für die Sortenindikatoren der HS-MS-Analyse statistisch nicht haltbar [Freundorfer, 1990; Freundorfer et al., 1991b; Maier, 1978]. Es ist daher anzunehmen, daß die Unterschiede im Signalmuster auf Veränderungen des Hopfenölspektrums zurückzuführen sind, die beim Transport, der Lagerung und der Vorbereitung der Hopfendolden auftreten.

Zur Validierung der entwickelten HS-MS-Meßmethode sollte die Untersuchung weiterer Jahrgänge und Sorten angeschlossen werden. Es ist allerdings zu erwarten, daß sie jahrgangsübergreifende Gültigkeit besitzt, zumal bislang für viele der gewählten Sortenindikatoren signifikante Jahrgangsunterschiede nicht nachweisbar waren [Freundorfer, 1991b].

VII Ausblick

Der im Rahmen dieser Arbeit realisierte MS-Sensor ist als Prototyp der ersten Generation von Sensorsystemen auf massenspektrometrischer Basis zu verstehen. Trotz der guten Qualität der vorliegenden Ergebnisse kann das Leistungsniveau des HS-MS-Systems weiter angehoben werden. Maßnahmen zur Verbesserung der Leistungsfähigkeit mußten bislang jedoch unberücksichtigt bleiben, da sie die Modifizierung des Geräteaufbaus und die Einbindung weiterführender analytischer Techniken und Auswerteverfahren notwendig machen würden.

Modifizierung des Geräteaufbaus

Zunächst stellt sich die Frage nach der universellen Anwendbarkeit des HS-MS-Systems in seiner derzeitigen Konfiguration. Die bearbeiteten Proben stellen nur eine Auswahl an Nahrungs- und Genußmitteln sowie Lebensmittelbedarfsgegenständen dar, deren Untersuchung mit Hilfe des MS-Sensors möglich schien. Es wäre natürlich wünschenswert, daß der MS-Sensor zur Untersuchung eines möglichst breiten Spektrums von Roh- und Fertigwaren geeignet ist. Gerade bei der Anwendung dieser Technik zur Beurteilung von Lebensmitteln kann die geringe Flüchtigkeit bestimmter wertgebender Verbindungen ein Hindernis für die Identitätsprüfung darstellen. Eine Veränderung der Probenzuführung zum Massenspektrometer könnte in Zukunft zur Beseitigung dieses Mangels beitragen. Zu diesem Zweck sollte das Probenaufgabesystem der statischen Kopfraumanalyse durch Aufgabetechniken ersetzt werden, welche die Anreicherung der mittel- und schwerflüchtigen Probeninhaltsstoffe ermöglichen. Alternative Verfahren, die hierfür in Betracht kommen, sind Techniken wie Thermodesorption, Purge and Trap und Festphasenmikroextraktion (SPME). Eine derartige Modifizierung der bestehenden Gerätekonfiguration wäre auch deshalb besonders vorteilhaft, weil der Einsatz des MS-Sensors dann auf pharmakologische und umweltrelevante Fragestellungen ausgedehnt werden könnte. In diesen Anwendungsbereichen dominieren höhermolekulare Verbindungen mit polaren funktionellen Gruppen, die aufgrund geringer Gas/Matrix-Verteilungskoeffizienten nur sehr niedrige Gasphasenkonzentrationen aufweisen.

Einbindung alternativer analytischer Meßtechniken

Die Modifizierung des entwickelten MS-Sensors bzw. der verwendeten Meßtechnik wird außerdem dadurch gerechtfertigt, daß es eine Reihe von Verbindungsklassen gibt, deren Massenspektren unter EI-Bedingungen von 70 eV Ionisierungsenergie sehr ähnlich bzw. identisch sind. Beispielsweise können Lebensmittel, die aufgrund verschiedener Gehalte an z. B. bestimmten cis- und trans-Isomeren signifikant unterschiedliche sensorische Profile besitzen, mittels HS-MS bei 70 eV Elektronenenergie nicht als unterschiedlich erkannt werden. Für die Untersuchung ebensolcher Proben könnte der Wechsel zur Ionisierung durch Chemische Ionisation von Nutzen sein, da durch Ausnutzung der CI-Reaktion bestimmter Reaktandgase eine zusätzliche Selektivität in der massenspektrometrischen Detektion erreicht werden kann. Aufgrund der wesentlich geringeren Ionisierungsenergie bei Chemischer Ionisation weisen CI-Spektren nur eine sehr kleine Zahl hochsignifikanter Fragmente auf, und Verbindungen mit sehr ähnlichen EI-Spektren besitzen oftmals deutlich unterschiedliche CI-Fragmentierungsmuster. Dadurch, daß die Chemische Ionisierung mit vielen Stoßgasen (H_2 , CH_4 , CH_3OH , $i-C_4H_{10}$, NH_3 , H_2O) betrieben werden kann, die zu verschiedenen Spektrentypen (Positiv-CI-Spektren und Negativ-CI-Spektren) führen, bietet diese Ionisierungsmethode einen sehr großen Spielraum.

Eine weitere Möglichkeit, den Aussagewert der Gesamt-Massenspektren zu erhöhen, ist die Aufnahme von Niedrigvolt-EI-Spektren. Bei einer Ionisierungsenergie von 12-15 eV werden aus energetischen Gründen Fragmentierungsreaktionen zurückgedrängt und teilweise unterbunden, so daß die registrierten Spektren einen höheren Informationsgehalt besitzen als EI-Spektren bei 70 eV.

Trotz der äußerst großen Einsatzfähigkeit des MS-Sensors sind auch diesem System Grenzen gesetzt, und zwar beispielsweise dann, wenn es sich bei den wertgebenden Inhaltsstoffen um optische Antipoden handelt, deren Konzentration entscheidend für die Qualität des untersuchten Probenmaterials ist. Die Qualitätsbeurteilung derartiger Proben muß, wie bisher üblich, mittels Methoden der analytischen Chemie, z. B. HS-GC-MS mit chiralen Gaschromatographie-Säulen, erfolgen.

Erprobung alternativer Algorithmen der Mustererkennung

Ein weiterer Ansatzpunkt zur Verbesserung der Leistungsfähigkeit des MS-Sensors wäre die Wahl des Mustererkennungs-Algorithmus, der als Grundlage der Klassifikation herangezogen wird. Seit damit begonnen wurde, Massenspektren mit Methoden der statistischen Entscheidungstheorie zu bearbeiten, wurden eine Reihe von multivariaten Verfahren hinsichtlich ihrer Klassifikationseigenschaften untersucht. Obwohl die Mehrheit dieser Untersuchungen in erster Linie dazu dienten, denjenigen Algorithmus zu finden, der entweder

- a) die höchste Treffsicherheit bei computergestützter Bibliothekssuche zur Aufklärung der Identität einer unbekanntem Verbindung oder aber
- b) die bestmögliche Vorhersage der Strukturen unbekannter Verbindungen aufgrund ihrer MS-Spektren

gewährleistet, können die Ergebnisse dieser Studien vorbehaltlos auf die Klassifikation von Mehrkomponentengemischen anhand ihrer Gesamt-Massenspektren übertragen und zur Auswertung der HS-MS-Daten herangezogen werden. Justice und Isenhour (1974) verglichen sechs Methoden der Mustererkennung zur Strukturvorhersage und fanden die größte Voraussagewahrscheinlichkeit für die Methode der k-nächsten Nachbarn. Dunn et al. (1989) berichteten davon, mit Hilfe einer modifizierten SIMCA-Methode die Struktur unbekannter Verbindungen anhand ihres MS-Spektrums in 94-97 % der Fälle vorhersagen zu können. Weiterhin ist zu beobachten, daß moderne Methoden der Daten- und Wissensverarbeitung wie die Künstliche Intelligenz, Expertensysteme, Neuronale Netzwerke und Fuzzy Logic Eingang in die Interpretation massenspektrometrischer Daten finden. Aus den Publikationen neueren Datums sei hier diejenige von Curry und Rumelhart (1990) erwähnt. Sie beschäftigten sich mit der Nutzung Neuronaler Netzwerke zur MS-Strukturaufklärung.

Nach Lektüre der zitierten Artikel erscheint es sinnvoll, alternative Mustererkennungsalgorithmen hoher Klassifikationsfähigkeit zur Datenauswertung von Sensor-MS-Daten zu erproben.

Der MS-Sensor als „Elektronische Nase“

Obschon der Anspruch herkömmlicher Chemosensor-Systeme, als „elektronische Nasen“ bzw. „künstliche Nasen“ zu fungieren, bereits vielfach diskutiert wurde, sollte er im Hinblick auf die Leistungsfähigkeit des MS-Sensors an dieser Stelle nochmals Erwähnung finden.

Persaud und Dodd (1982) in Großbritannien sowie Ikegami (1985) und Kaneyasu et al. (1987) in Japan stellten erstmals das Konzept der „künstlichen Nase“ vor, einen „intelligenten“ Array von Chemosensoren. Gardner und Bartlett formulierten dies 1994 folgendermaßen:

„An electronic nose is an instrument, which comprises an array of electronic chemical sensors with partial specificity and an appropriate pattern-recognition system, capable of recognising simple or complex odours“

Seither sind eine Reihe von Publikationen erschienen, die sich ausführlich mit den Parallelen und Unterschieden befassen, die zwischen „elektronischen“ und menschlichen Nasen bestehen [Gardner und Bartlett, 1994; Schweizer-Berberich et al., 1995; Craven et al., 1996], zuletzt 1997 von Pearce (1997a). Neuere Erkenntnisse über den Ablauf des Riechvorgangs wurden ebenfalls von Pearce (1997b) zusammengefaßt. Als Ergebnis dieser öffentlichen Diskussion kann festgehalten werden, daß Metalloxid-, Polymer- und massensensitive Multi-Sensor-Arrays dem menschlichen Geruchssinn vor allem hinsichtlich Selektivität, Ansprechzeit (s vs. ms), Langzeitstabilität (Jahre vs. lebenslange Regeneration der Sinneszellen) und Nachweisempfindlichkeit (ppm vs. sub-ppb) weit unterlegen sind.

Obwohl für den massenspektrometrischen Nachweis von Verbindungen (absolute) Substanzmengen im Nanogramm-Bereich ausreichen, ist auch ein Sensorsystem auf MS-Basis der menschlichen Geruchswahrnehmung in puncto Nachweisempfindlichkeit deutlich unterlegen. Die Erkennungsschwellenwerte der meisten geruchsaktiven Verbindungen sind kleiner als 1 pmol/Reiz [Ranson und Belitz, 1992]. Auch die herausragenden Eigenschaften des menschlichen Geruchssinns, die Fähigkeit zur Unterscheidung von geruchsaktiven optischen Antipoden und die hedonistische Beurteilung der Geruchsqualität von Mischungen können mit dem MS-Sensor nicht analytisch nachvollzogen werden.

Dessen ungeachtet bietet das HS-MS-System aufgrund der freien Wahl des Sensorarrays die Möglichkeit, Substanzgemische nach dem Vorhandensein bzw. der Konzentration bestimmter Geruchsstoffe zu klassifizieren, falls diese in einer für die massenspektrometrische Detektion ausreichenden Konzentration vorliegen. Dies er-

reicht man, indem man Fragmentationen geruchsaktiver Verbindungen in das Array einbezieht. Eine derartige Meßmethode entspräche in praxi weitestgehend der sensorischen Bewertung bezüglich vorgegebener (geruchlicher) Eigenschaften. Sensorsysteme auf MS-Basis wären somit ein vergleichsweise einfaches und preiswertes analytisches Werkzeug zur Unterstützung der humansensorischen Bewertung z. B. von Lebensmitteln. Ihr Einsatz wäre vor allem in Bereichen interessant, in denen die Bewertung durch ein Sensorikpanel aufgrund des Vorhandenseins geruchlich besonders unangenehmer oder gar gesundheitsschädlicher Inhaltsstoffe vermieden werden sollte.

VIII Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein Sensorsystem auf massenspektrometrischer Basis (MS-Sensor) entwickelt. Anstoß zur Realisierung des MS-Sensors gaben die Unzulänglichkeiten, mit denen herkömmliche Chemosensoren auf Multi-Array-Basis bis dato behaftet sind. Der Nutzung der massenspektrometrischen Detektion als neuartiger Sensortechnik lag die Registrierung der Massenspektren von Substanzgemischen zugrunde, welche unter Verzicht auf eine gaschromatographische Trennung ins Massenspektrometer überführt wurden. Die so erhaltenen Gesamtspektren der Substanzgemische wurden mit multivariaten Methoden ausgewertet. Einzelne Fragmentationen stellten dabei die Sensoren eines Multi-Sensor-Arrays dar, ihre Meßintensitäten wurden wie die Signale von Festkörpersensoren behandelt.

Der Meßaufbau des MS-Sensors als HS-MS-System wurde realisiert. Headspace-Autosampler und Massenspektrometer, die miteinander gekoppelt wurden, standen als kommerzielle Geräte zur Verfügung. Die offene Kopplung stammte aus eigener Fertigung. Das HS-MS-System wurde in eine Meßumgebung integriert, die neben der Direktinjektion des unaufgetrennten Substanzgemisches alternativ auch die Möglichkeit zur gaschromatographischen Trennung der untersuchten Stoffgemische bietet. Dies wurde durch den Einbau eines kommerziell erhältlichen 6-Wege-Ventils erreicht. Verfahren und Anordnung der Sensor-Massenspektrometrie wurden patentrechtlich geschützt [Patentschrift DE 19713194C2].

Um die mittels kommerzieller MS-Software aufgezeichneten massenspektrometrischen Rohdaten einer Hauptkomponentenanalyse zugänglich zu machen, wurde ein Computerprogramm benötigt. Dieses Konvertierungsprogramm wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit realisiert. Es ermöglichte die Merkmalsextraktion und diente zum Erstellen von Klassendateien mit bestimmtem Datenformat. Die Klassendateien konnten so in ein kommerzielles Programm zur Mustererkennung eingelesen und mittels Hauptkomponentenanalyse ausgewertet werden.

Um die Sensor-Massenspektrometrie in praxi einzusetzen, wurde eine spezielle Strategie zur Untersuchung komplexer Stoffgemische entwickelt. Sie hatte zum Ziel, eine auf die jeweils vorliegende Probe bzw. Problemstellung zugeschnittene Auswahl von

Meßparametern für die HS-MS-Analyse zu ermitteln. Die Vorgehensweise bestand darin, zunächst die Zusammensetzung des Dampfraumgases zu ermitteln und die qualitätsrelevanten oder probentypischen Verbindungen zu identifizieren. Dazu wurden klassische Verfahren der analytischen Chemie wie HS-GC-FID und HS-GC-MS benutzt. Aus den Massenspektren kennzeichnender Probeninhaltsstoffe wurden dann einige charakteristische Fragmentationen ausgewählt. Ob diese hinsichtlich Spezifität und Intensität dazu geeignet waren, die jeweilige Probe hinsichtlich ihrer typischen Eigenschaften zu beurteilen, wurde schließlich durch Aufnahme und Auswertung des HS-GC-MS-Profiles des Kopfraumgases geklärt. Es wurde eine Auswahl von Fragmentationen erhalten, die im Rahmen einer HS-MS-Analyse als Sensorarray herangezogen wurde und die sich maßgeblich an den Massenspektren charakteristischer Probeninhaltsstoffe orientierte.

Im Rahmen der HS-MS-Analysen wurden die Intensitäten der gewählten Fragmentationen aufgezeichnet. Dies erfolgte im Selected Ion Monitoring oder im Full-Scan Verfahren. Die Konzentration der probentypischen Inhaltsstoffe entschied über die Art der Scantechnik bei Direktinjektion. Anschließend wurden Meßwerte mehrerer HS-MS-Analysen mit Hilfe des realisierten Computerprogramms zu Kategorien bzw. Klassen zusammengefaßt. Die Auswertung der Klassendaten mittels zweistufiger Hauptkomponentenanalyse lieferte Aussagen über die Unterscheidbarkeit der vordefinierten Klassen.

Die praktische Einsatzfähigkeit des HS-MS-Systems zur Identitätsprüfung und Qualitätsbeurteilung wurde an ausgewählten natürlichen Proben aus dem Lebensmittelbereich geprüft. Bei der Auswahl der natürlichen Probensysteme wurde besonderes Augenmerk darauf gerichtet, Fragestellungen zu bearbeiten, bei denen die sensorische Qualität des Probenmaterials als Klassifikationsgrundlage herangezogen werden konnte. Außerdem sollten möglichst viele unterschiedliche Probenmatrices untersucht werden.

Als Ergebnis der Analysen läßt sich folgendes festhalten:

Die Differenzierung von Sonnenblumenöl hinsichtlich unterschiedlicher Oxidationszustände mittels Sensor-Massenspektrometrie ist grundsätzlich möglich. Gleiches gilt für thermisch gealtertes Walnußöl in unterschiedlichen Stadien der Ranzigkeit. Bei der Direktinjektion des Kopfraumgases wurden die Intensitäten der Fragmentationen

m/z 55, m/z 56, m/z 57, m/z 58 und m/z 72 im Selected Ion Monitoring-Verfahren registriert. Diese sind Fragmentationen aus den MS-Spektren von Pentan, Pentanal, Hexanal und Heptan. Die Diskriminierung erfolgte damit auf der Basis von Verbindungen, die als Indikatoren für fortschreitende Lipidperoxidation literaturbekannt sind. Die entwickelte Meßmethode leistet außerdem die Sortenunterscheidung von Walnuß- und Sonnenblumenöl.

Beim Nachweis lagerungsbedingter Veränderungen gemahlener Gewürznelken erwies sich das entwickelte System ebenfalls als einsetzbar. Neben der Abnahme sensorisch aktiver Inhaltsstoffe Eugenol und Caryophyllen war eine starke Zunahme des Methylacetatanteils im Headspace nachweisbar. Dies konnte anhand von Verschiebungen im Signalmuster des dreidimensionalen Fragmentationen-Arrays m/z 74, m/z 91 und m/z 165 nachvollzogen werden. Die HS-MS-Messungen wurden im Selected Ion Monitoring Verfahren durchgeführt. Aussagen über die sensorische Qualität des Gewürzes waren mit der entwickelten Meßmethode jedoch nur beschränkt möglich. Eugenol als aromaprägende Verbindung besitzt zwar maßgeblichen Einfluß auf das sensorische Profil von Gewürznelken, aber der Einfluß weiterer Inhaltsstoffe mit hohem Aromawert wie z.B. Eugenylacetat konnte bei dieser HS-MS-Methode nicht berücksichtigt werden.

Es wurde eine Meßmethode zur Untersuchung von Rosenölen entwickelt, mit welcher sich die Differenzierung von Rosenölen aus Blütenmaterial der Sorten *Rosa damascena* und *Rosa centifolia* auf Basis des Monoterpenmusters der etherischen Öle erzielen ließ. Außerdem wurde eine zweite Meßmethode zur Kontrolle der Produktkonstanz der etherischen Öle ausgearbeitet. Diese orientierte sich am Mengenverhältnis der isomeren Rosenoxide zur gesamten Fraktion der Monoterpenkohlenwasserstoffe. Die bei der Untersuchung eines Rosenöls synthetischen Ursprungs erhaltenen Ergebnisse weisen darauf hin, daß die letztgenannte Methode Hilfestellung geben könnte, Rosenöle synthetischen Ursprungs von solchen Ölen natürlichen Ursprungs zu unterscheiden. Meßtechnisch zeichnen sich beide Verfahren dadurch aus, daß bei der Direktinjektion des Probenheadspace die Intensitäten der Fragmentationen m/z 46-300 im Full-Scan-Verfahren registriert, die Signalintensitäten der Ionen m/z 68, m/z 77 und m/z 121 zur Sortendifferenzierung sowie m/z 92, m/z 139 und m/z 154 zur Produktkontrolle aus den Meßdateien ausgelesen und mittels Hauptkomponentenanalyse ausgewertet werden.

Das analytische Potential des Gesamtsystems zeigte sich bei der Untersuchung von Korkmaterial mit Fehlgeruch. Mittels HS-MS konnte die Anwesenheit von 2,4,6-Trichloranisol auf beanstandetem, offenbar mikrobiell befallenem Korkmaterial nachgewiesen werden. Die Screeningmethode zur Qualitätskontrolle von Kork beruht auf der Erfassung der Intensitäten der Fragmentationen m/z 195, m/z 197 und m/z 210 im SIM-Verfahren.

Ein zur Sortendifferenzierung von Hopfen erarbeitetes Sensor-MS-Verfahren erwies sich als geeignet, Hopfen der Sorten Hallertauer Perle, Tettnanger und Hallertauer Nugget zu diskriminieren. Das hierbei verwendete Fragmentationen-Array setzte sich aus den 12 Fragmentationen m/z 100, m/z 101, m/z 106, m/z 110, m/z 111, m/z 112, m/z 114, m/z 115, m/z 127, m/z 137, m/z 139 und m/z 142 zusammen. Bei den genannten Fragmentationen handelt es sich um charakteristische Fragmentationen einiger Carbonsäureester, Sabinen, α -Pinen, β -Pinen, β -Ocimen und Linalool. Daß sich gerade diese Hopfeninhaltsstoffe als Sortenindikatoren eignen, wurde im Rahmen von HS-GC-FID Untersuchungen ermittelt.

Das entwickelte System besticht durch mehrere Vorzüge: die exakte Wiederholbarkeit der Meßergebnisse, die empfindliche Erfassung der Spektren von Analyten im ppb- bis ppt-Bereich, die Linearität der Signalintensität über einen großen Konzentrationsbereich und die Langzeitstabilität des Detektionssystems. Insbesondere die flexible Anpassung des Sensor- bzw. Fragmentationen-Arrays an das vorliegende Meßproblem und die gute Übertragbarkeit der Meßergebnisse baugleicher Gesamtsysteme sprechen für die Verwendung der Massenspektrometrie als Sensortechnologie.

Als alleiniger Nachteil hat sich erwiesen, daß die Nachweisempfindlichkeit des HS-MS-Systems im Vergleich zur Empfindlichkeit des HS-GC-MS-Systems deutlich kleiner ist. Dies wird der der Headspace-Probenaufgabe zugeschrieben, bei der gemeinsam mit dem Analyten eine nicht vernachlässigbare Menge an Luft (Stickstoff, Sauerstoff und Feuchtigkeit) in die Ionenquelle eingebracht wird.

IX Experimenteller Teil

1. Instrumentelle Ausstattung

1.1 Massenspektrometer

Bei dem in den MS-Sensor integrierten Quadrupol-Massenspektrometer handelt es sich um ein Gerät der Firma Finnigan MAT, Modell 4500. Dies ist ein differentialgepumptes System mit zwei baugleichen Turbomolekularpumpen der Firma Balzers-Pfeiffer. Eine Drehschieberpumpe vom Typ Alcatel 2008A liefert das zum Betrieb der Quellenturbomolekularpumpe notwendige Vorvakuum, eine Drehschieberpumpe vom Typ Alcatel 2012A stellt das Vorvakuum für die zweite Turbomolekularpumpe, die Analysatorpumpe, bereit. Die Steuerung des Instruments sowie die Datenregistrierung erfolgten mit einem Personal Computer 120MHz Pentium und der Applikations-Software MASPEC Data System Version 2.11 für Windows der Firma MSS, Manchester.

Die wichtigsten Leistungsparameter des Massenspektrometers sind im folgenden angegeben:

Ionenquelle:	EI/CI
Austrittsstrom:	1,4 μ A
Elektronenenergie:	70 eV
Quellentemperatur:	150 °C
Massenbereich bei voller Beschleunigungsspannung:	4-1000 amu
Massenanalysator:	Quadrupol
Auflösung:	2500 bei m/z 1000
Detektor:	Dynoden-Elektronenvervielfacher
Vakuumsystem:	differential gepumpt
Nennsaugvermögen der Turbomolekularpumpen:	270 l/s
Vorpumpen:	9,7 m ³ /h (Typ Alcatel 2008A) 15 m ³ /h (Typ Alcatel 2012A)
Druck im Analysator:	7,4 $\times 10^{-7}$ mbar (GC-Temperatur 100 °C)

Restriktionskapillare:	Fused-Silica-Kapillare, unpolar, deaktiviert, 0,2 mm i.D.
Trägergas:	Helium

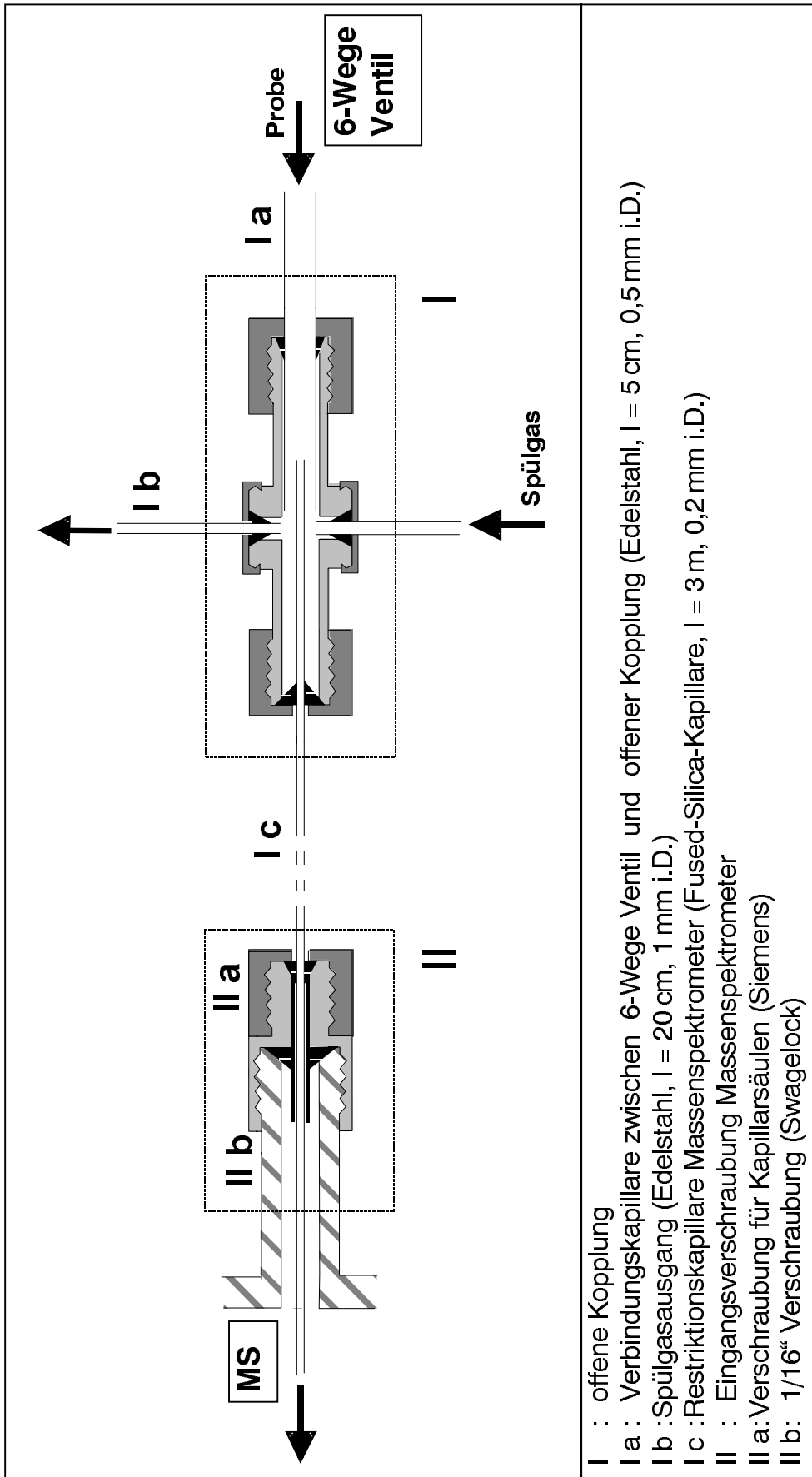
1.1.1 GC-MS-Interface

Das ursprüngliche Konzept eines völlig geschlossenen Systems, bei dem die drei Komponenten Headspace-Sampler, Umschaltventil und Massenspektrometer direkt durch beheizte Transferkapillaren miteinander gekoppelt sind, wurde aufgegeben, da nach jeweils ca. 40-60 Injektionen eine Verstopfung der anfänglich eingebauten MS-Restriktionskapillare mit Innendurchmesser 0,15 mm auftrat. Der so notwendige Austausch der Kapillare war umständlich und zeitraubend, da hierbei die Heizung der Transferline und die direkte Kopplung am Eingang des Massenspektrometers abgebaut werden mussten. Dies machte das Abschalten und Belüften des Massenspektrometers notwendig. Nach Austausch der Transferkapillare und Wiederinbetriebnahme mußte daher mit einer zusätzlichen Wartezeit gerechnet werden, bis das System das Endvakuum erreicht hatte und die optimale Meßempfindlichkeit gegeben war.

Daher wurde die Direktkopplung durch eine offene Kopplung aus eigener Fertigung (I) ersetzt, wie sie in Abbildung IX.1 dargestellt ist. Die ursprünglich verwendete MS-Restriktionskapillare mit Innendurchmesser 0,15 mm wurde durch eine Kapillare mit Innendurchmesser 0,2 mm (Ic) ersetzt.

1.1.2 Eingangsverschraubung des Massenspektrometers

Die ursprünglich zweiteilige Eingangsverschraubung, welche den Anschluß der Transferkapillare ans MS gewährleistet, war Ursache für in unregelmäßigen Abständen auftretende Dichtigkeitsprobleme. Daher wurde sie durch ein einteiliges, zu diesem Zwecke angefertigtes Übergangsstück (II) ersetzt. Dieses ist ebenfalls in Abb. IX.1 dargestellt.



- I : offene Kopplung
 I a : Verbindungskapillare zwischen 6-Wege Ventil und offener Kopplung (Edelstahl, l = 5 cm, 0,5 mm i.D.)
 I b : Spülgasausgang (Edelstahl, l = 20 cm, 1 mm i.D.)
 I c : Restriktionskapillare Massenspektrometer (Fused-Silica-Kapillare, l = 3 m, 0,2 mm i.D.)
 II : Eingangsverschraubung Massenspektrometer
 II a: Verschraubung für Kapillarsäulen (Siemens)
 II b: 1/16" Verschraubung (Swagelock)

Abb. IX.1: Offene Kopplung und Eingangsverschraubung des Massenspektrometers

1.2 Gaschromatographie

Zur Durchführung der zeitaufgelösten gaschromatographischen Untersuchungen standen drei Systeme zur Verfügung. HS-GC-MS-Analysen zur Substanzidentifizierung wurden in der Meßumgebung durchgeführt, welche auch als MS-Sensor genutzt werden kann (Kap. IV.1). Das entwickelte MS-System wurde dabei durch Wahl der Ventilstellung II (Abb. IV.2) als HS-GC-MS-System genutzt. Die Aufnahme von SIM-Profilen erfolgte ebenfalls mit diesem System. Dagegen wurden HS-GC-FID-Analysen zur Ermittlung der quantitativen Zusammensetzung der Kopfraumgase mit einer Gerätekombination, bestehend aus einem Headspace-Sampler Dani 86.50 und einem GC Dani 8500, durchgeführt (Kap. IX.2.1). Außer bei den Hopfenproben wurde die Headspace-Zusammensetzung der vorliegenden Lebensmittel und Lebensmittelbedarfsgegenstände mit diesem GC-System ermittelt. Die Hopfenproben wurden extern mit einem dritten HS-GC-FID-System durchgeführt [Zeidler, 1999].

2. Analytische Methoden

2.1 Headspace-Gaschromatographie der flüchtigen Inhaltsstoffe

Headspace-Sampler:	Dani 86.50
Probenflaschen:	22 ml
Druckbeaufschlagungszeit:	3 min
Beaufschlagungsdruck :	0,76 bar (2 bar bei Speiseölen)
Trägergas:	Stickstoff
Trägergasvordruck:	0,78 bar
Dosierzeit:	30 s
Entspannungszeit:	10 s
Probenschleife:	1 ml
Sonstiges:	Einwaage, Thermostatisierungsbedingungen, Temperaturen des Nadelements und der HS-Transferline sind in Tab. IX.1 aufgeführt

Gaschromatograph:	Dani 8500
Datensystem:	Maestro Chromatography Software, Version 2.4
Trennsäule:	Fused-Silica-Kapillartrennsäule, Belegung DB-1, 30 m x 0,32 mm i.D., $d_f = 3,0$ mm
Detektor:	FID
Detektortemperatur:	250 °C
Temperaturprogramm:	60 °C (5 min) → 5 °C/min → 250 °C (10 min)
Brenngase:	Luft 400 ml/min, Wasserstoff 33 ml/min

Säulenfluß: 1,63 ml/min
 Splitstrom (Injektorsplit): 10 ml/min (60 °C GC-Temperatur)
 5 ml/min (60 °C GC-Temperatur) bei Speiseölen

Tab. IX.1: Headspace-Bedingungen bei HS-GC-FID-Analyse

Untersuchungsmaterial	Einwaage	Thermostatisierung	T _{Nadel} (°C)	T _{HS-K} (°C)	Kap.
Pentan in Maiskeimöl	1 g	60 °C (15 min)	100	140	IV.4
Zweikomponentenmischungen 1-Decen/Limonen	24 mg	60 °C (15 min)	110	140	V.2.4
Speiseöle	6 g	100 °C (30 min)	110	140	VI.1
Gewürznelken	2 g	75 °C (30 min)	100	140	VI.2
Rosenöle	50 mg	60 °C (15 min)	80	140	VI.3
Kork	400 mg	135 °C (180 min)	150	160	VI.4
Hopfenpulver	750 mg	80 °C (45 min)	90	140	VI.5

2.2 Headspace-Gaschromatographie-Massenspektrometrie zur Substanzidentifizierung

Headspace-Sampler: Perkin Elmer HS40
 Probenflaschen: 22 ml
 Injektionszeit: siehe Tab. IX.2
 Trägergas: Helium
 Trägergasvordruck: 1,2 bar
 Sonstiges: Einwaage, Thermostatisierung, Temperaturen des Nadelelements und der HS-Transferline sind in Tabelle IX.1 aufgeführt

Gaschromatograph: Siemens Sichromat 1-4
 Datensystem: MASPEC Data System Version 2.11
 Trennsäule: Fused-Silica-Kapillartrennsäule, Belegung DB-5, 30 m x 0,25 mm i.D., d_f = 1 mm
 Temperaturprogramm: 60 °C (5 min) → 5 °C/min → 250 °C (10 min)

Massenspektrometer: Finnigan MAT, Modell 4500
 Ionenenergie: 70 eV
 Ionenquelle: 150 °C
 Emission: 1,4 µA
 Beschleunigungsspannung: 70 V

Multiplierspannung: 1,4 kV
 Massenbereich: 33-300 amu (1 scan/s)

Tab. IX.2: Injektionszeit bei HS-GC-MS-Analyse zur Substanzidentifizierung (Full Scan)

Untersuchungsmaterial	t_{inj} (min)
Speiseöle	0,25
Gewürznelkenpulver	0,10
Rosenöle	0,10
Kork	0,25
Hopfenpulver	0,10

2.3 Headspace-Gaschromatographie-Massenspektrometrie zur Aufnahme der SIM-Profile

Headspace-Sampler: Perkin Elmer HS40
 Probenflaschen: 20 ml
 Injektionszeit: siehe Tab. IX.2
 Trägergas: Helium
 Trägergasvordruck: 1,2 bar
 Sonstiges: Einwaage, Thermostatisierung, Temperatur des Nadelelement und der Transferline sind in Tabelle VIII.1 aufgeführt

Gaschromatograph: Siemens Sichromat 1-4
 Datensystem: MASPEC Data System Version 2.11
 Trennsäule: Fused-Silica-Kapillartrennsäule, Belegung DB-5, 30 m x 0,25 mm i.D., $d_f = 1$ mm
 Temperaturprogramm: 60 °C (5 min) → 5 °C/min → 250 °C (10 min)

Massenspektrometer: Finnigan MAT, Modell 4500
 Ionenenergie: 70 eV
 Ionenquelle: 150 °C
 Multiplierspannung: 1,4 kV
 Meßmethode: siehe Tabelle IX.3

2.4 Headspace-MS Analyse (Sensor-MS Messungen)

Headspace-Sampler:	Perkin Elmer HS40
Probenflaschen:	20 ml
Trägergas:	Helium
Trägergasvordruck:	siehe Tab. IX.3
Injektionszeit:	siehe Tab. IX.3
Messungen pro Flasche:	1
Sonstiges:	5 Messungen pro Flasche bei Rosenölen Einwaage, Thermostatisierung, Temperatur des Nadelements und der Transferline sind in Tabelle IX.1 aufgeführt
Gaschromatograph:	Siemens Sichromat 1-4
Datensystem:	MASPEC Data System Version 2.11
Temperatur:	isotherm siehe Tab. IX.3
Massenspektrometer:	Finnigan MAT, Modell 4500
Ionenenergie:	70 eV
Ionenquelle:	150 °C
Meßmethode:	siehe Tabelle IX.3

2.5 Mustererkennung

Tab. IX.4: Methoden der Datenverarbeitung und Mustererkennung

Untersuchungsmaterial	Messungen pro Klasse	Datenverarbeitung
Pentan in Maiskeimöl	-	-
Zweikomponentenmischungen aus 1-Decen und Limonen	10	Hauptkomponentenanalyse
Speiseöle	5	Hauptkomponentenanalyse
Gewürznelken	15	Hauptkomponentenanalyse
Rosenöle	10	Hauptkomponentenanalyse
Kork	3	Hauptkomponentenanalyse
Hopfenpulver	50	Hauptkomponentenanalyse

2.6 Bestimmung der Peroxidzahl (POZ)

Die Ermittlung der Peroxidzahl erfolgte nach Wheeler (1932).

Tab. IX.3: Meßparameter bei HS-GC-MS (SIM)-Analyse und HS-MS-Analyse

Untersuchungsmaterial	p _{TrG} (bar)	t _{inj} (min)	T _{GC} (°C)	Meß- methode	Fragmention: Meßzeit/Ion
Pentan in Maiskeimöl	0,5-2	0,25-3	150	SIM	m/z 57, 72: 10 ms/Ion
Zweikomponentenmischungen aus 1-Decen und Limonen	1	0,05	150	Full Scan	m/z 45-300 amu: 3,9 ms/Ion
Speiseöle	2	0,25	150	SIM	m/z 50, 51, 53, 55, 56, 57, 58, 67, 69, 70, 72, 81, 82, 83, 84, 86: 30 ms/Ion
Gewürznelkenpulver	1	0,5	150	SIM	m/z 74, 91, 165: 150 ms/Ion
Rosenöle	1	0,05	175	Full Scan	m/z 46-300: 3,9 ms/Ion
Kork	1	0,25	160	SIM	m/z 195, 197, 210: 300 ms/Ion
Hopfenpulver	1	0,5	120	SIM	m/z 100, 101, 106, 110, 111, 112, 114, 115, 127, m/z 137, 139, 142: 5 ms/Ion

X Literaturverzeichnis

Einleitung und Aufgabenstellung

- ANSI Standard MC6.1-1975 (ISA S37.1) „Electrical Transducer Nomenclature and Terminology“, Instrument Society of America, Research Triangle Park, NC, 1975
- Göpel W., Schierbaum K.-D., in: Göpel W., Hesse J., Zemel J.N. (Hrsg.) *Sensors- A comprehensive Survey*, Vol. 2 Chemical and Biochemical Sensors Part I, VCH Verlag, Weinheim, S. 14, (1991)
- IEC draft 65/84 „Terms and Definitions in Industrial-Process Measurements and Control“ International Electrotechnical Committee, (1982)
- Norton H.N., *Sensor and Analyzer Handbook*, Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ, (1982)
- Wolber W.G., Wise K.D., *IEEE Transactions ED-26*, 1864 (1979)

Theoretische Aspekte der Multi-Sensor-Array-Technik

- Aishima T., *Analytica Chimica Acta* **243**, 293 (1991a)
- Aishima T., *J. Agric. Food Chem.* **39**, 752 (1991b)
- Broda S., Zellner A., Schaller R., Habegger R., Schnitzler W.H., *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* **94**, 77 (1998)
- Ballantine D.S., Wohltjen H., *Anal. Chem.* **61** (11), 704 A, 1989
- Cattell R.B., *Multivariate Behavioral Research* **1**, 245 (1966)
- Cao Z., Lin H.-G., Wang B.-F., Chen Z.-Z., Ma F.-L., Wang K.-M., Yu R.-Q., *Analytical Letters* **28** (3), 451 (1995)
- Cao Z., Lin H.-G., Wang B.-F., Xu D., Yu R.-Q., *Fresenius J. Anal. Chem.* **355**, 194 (1996)
- Carey W. P., Beebe K.R., Kowalski B.R., *Anal. Chem.* **59**, 1529 (1987)
- Chang S.-M., Iwasaki Y., Suzuki M., Tamiya E., Karube I., *Analytica Chim. Acta* **249**, 323 (1991)
- Dickert F.L., Zenkel M., Bulst W.-E., Fischerauer G., Knauer U., *Fresenius J. Anal. Chem.* **357**, 27 (1997)
- Di Natale C., Davide F., D'Amico A., Nelli P., Gropelli S., Sberveglieri G., *Sensors and Actuators B* **33**, 83 (1996)
- Di Natale C., Macagnano A., Davide F., D'Amico A., Paolesse R., Boschi T., Faccio M., Ferri G., *Sensors and Actuators B* **44**, 521 (1997)
- Dunn W.J., Emery S.L., Glen W.G., Scott D.R., *Environ. Sci. Technol.* **23**, 1499 (1989)
- Ema K., Yokoyama M., Nakamoto T., Moriizumi T., *Sensors and Actuators* **18**, 291 (1989)
- Flury B., Riedwyl H., *Angewandte multivariate Statistik*, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, (1983)
- Gardner J.W., *Sensors and Actuators B* **4**, 109 (1991)

- Gardner J.W., Shurmer H.V., Tan T.T., *Sensors and Actuators B* **6**, 71 (1992)
- Gardner J.W., Bartlett P.N., *Sensors and Actuators B* **18-19**, 211 (1994)
- Guilbault G.G., *Proceedings of the Analytical Division of the Royal Chemical Society – London* **19**, 68 (1982)
- Hartung J., Elpelt B., *Multivariate Statistik*, Oldenbourg Verlag, München, (1986)
- Hatfield J.V., Neaves P., Hicks P.J., Persaud K., Travers P., *Sensors and Actuators B* **18-19**, 221 (1994)
- Henrion R., Henrion G., *Multivariate Datenanalyse*, Springer-Verlag, Berlin, (1994)
- Hierold C., Müller R., *Sensors and Actuators* **17**, 587 (1989)
- Hlavay J., Guilbault G.G., *Analytical Chemistry* **49** (13), 1890 (1977)
- Hodgins D., *Sensors and Actuators B* **26-27**, 255 (1995)
- Hoffheins B.S., Lauf R.J., *Journal of Sensory Studies* **5** (2), 129 (1990)
- Hofmann T., Schieberle P., Krummel C., Freilin A., Bock J., Heinert L., Kohl D., *Sensors and Actuators B* **41**, 81 (1997)
- Holmberg M., Winquist F., Lundström I., Gardner J.W., Hines E.L., *Sensors and Actuators B* **26-27**, 246 (1995)
- Horner G., *Klassifikation von Gasen unter Verwendung nichtselektiver Chemosensoren*, Dissertation, Technische Universität München, (1990)
- Horner G., Albertshofer W., *AEÜ* **42** (2), 85 (1988)
- Horner G., Müller R., *Desired and Achieved Characteristics of Sensor Arrays*, in: Gardner J.W., Bartlett P.N., (Hrsg.), *Sensors and Sensory Systems for an Electronic Nose*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, S. 181-186, (1989)
- Hurst W.J. (Hrsg.), *Sensor Array Systems and Electronic Nose Applications*, *Seminars in Food Analysis* **2** (4), (1997)
- Hurst W.J. (Hrsg.), *Electronic Noses & Sensor Array Based Systems – Design & Applications*, *Proceedings of the 5th International Symposium on Olfaction and the Electronic Nose*, Technomic Publishing Co., Lancaster, (1999)
- Kaiser H.F., Dickman K.W., *Psychologist* **14**, 425 (1959)
- Lauf R.J., Hoffheins B.S., *Fuel* **70**, 935 (1991)
- Lucas Q., Dutheil O., Quezel-Crasaz P., *Analisis Magazine* **24** (8), M 20 (1996)
- Mahalanois P.C., *On the Generalized Distance on Statistics*, *Proc. Nat. Inst. India* **2**, 49 (1936)
- Marinell G., *Multivariate Verfahren*, Oldenbourg Verlag, München, (1979)
- Massart D.L., Vandeginste B.G.M., Deming S.N., Michotte Y., Kaufmann L., *Chemometrics- a Textbook*, Elsevier, Amsterdam, (1988)
- Meyer-Brötz G., Schürmann J., *Methoden der automatischen Zeichenerkennung*, Oldenbourg Verlag, München, S. 61 (1970)
- Müller R., Horner G., *Siemens Forsch.-u. Entwickl.-Ber.* **15** (3), 95 (1986)
- Niebling G., *Strategien der Signalverarbeitung in der Chemosensorik – Konventionelle Methoden und neuronale Netze*, Dissertation, Technische Universität München, (1996)
- Ohloff G., *Riechstoffe und Geruchssinn*, Springer Verlag, Berlin, (1990)

- Oishi T., Kaneyasu M., Ikegami A., Hybrid Circuits **16**, 19 (1988)
- Otto M., Chemometrie, VCH, Weinheim, (1997)
- Pearce T.C., Gardner J.W., Friel S., Analyst **118**, 371 (1993)
- Pearce T.C., Biosystems **41**, 69 (1997)
- Persaud K., Dodd G., Nature **299**, 352 (1982)
- Persaud K., Khaffaf S., Hobbs P., Misselbrook T., Sneath R., Chemical Senses **21**, 495 (1996)
- Ruske G., Automatische Spracherkennung, Oldenbourg Verlag, München, (1988)
- Schweizer-Berberich M., Harsch A., Göpel W., tm –Technisches Messen **62**, 6 (1995)
- Sharaf M.A., Anal. Chem. **58 (14)**, 3084 (1986)
- Shiers V.P., Farnell P.J., Food Technology International Europe, 168 (1995)
- Shurmer H.V., Gardner J.W., Corcoran P., Sensors and Actuators B **1**, 256 (1990)
- Springett M.B., Shurmer H.V., Gardner J.W., Tan T.T., Moore T.T., Applications of an „Electronic Nose“ in the Food and Drink Industry, Technical Memorandum No. 600, MAFF Project No. 6513 (1989-90), Campden & Chorleywood Food Research Association, (1990)
- Sundgren H., Lundström I., Winquist F., Lukkari I., Carlsson R., Wold S., Sensors and Actuators B **2**, 115 (1990)
- Tan T., Lucas Q., Moy L., Gardner J., Bartlett P., LC-GC INT. **8 (4)**, 218 (1995)
- Wijesundera C., Walsh T., The Australian Journal of Dairy Technology **53**, 141 (1998)
- Winquist F., Hörnsten E.G., Sundgren H., Lundström I., Meas. Sci. Technol. **4**, 1493 (1993)
- Wold S., Technometrics **20**, 397 (1978)
- Zell A., Simulation neuronaler Netze, Addison-Wesley Publishing Company, Bonn, (1996)
- Zürcher E., Kucera , Niemz P., Moy L., Dunky M., Holz als Roh- und Werkstoff **55**, 260 (1997)

Konzeptionelle Aspekte und theoretische Grundlagen des MS-Sensors

- Anklam E., Lipp M., Radovic B., Chiavaro E., Palla G., Food Chem. **61 (1/2)**, 243 (1998)
- Atkins P.W., Physikalische Chemie, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, S. 71-72, (1987)
- Edelmann C., Vakuumphysik – Grundlagen, Vakuumerzeugung und –messung, Anwendungen , Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, S. 124-126, (1998)
- Isenhour T.L., Jurs P.C., Anal. Chem. **43 (10)**, 20A (1971)
- Justice J.B., Isenhour T.L., Anal. Chem. **46 (2)**, 223 (1974)
- Justice J.B., Isenhour T.L., Anal. Chem. **47 (13)**, 2286 (1975)
- Lawton W.H., Sylvester E.A., Technometrics **13**, 617 (1971)
- Fischer J. et al. in: Leibnitz E., Struppe H.G. (Hrsg.), Handbuch der Gaschromatographie, Akademische Verlagsgesellschaft Geest & Portig K.-G., Leipzig, S. 142, (1984)
- Mc Lafferty F.W., J. Am. Soc. Mass Spectrom. **1**, 1 (1990)

- Mc Lafferty F.W., Stauffer D.B., J. Chem. Inf. Comput. Sci. **25**, 245 (1985)
- Martinsen D.P., Song B.-H., Mass Spectrom. Rev. **4**, 461 (1985)
- Mellon F.A. in: Johnstone R.A.W. (Hrsg.) Mass Spectrometry; The Chemical Society: London, Vol. 4, S. 69 (1977)
- Ritter H.L., Lowry S.R., Isenhour T.L., Anal. Chem. **48 (3)**, 591 (1976)
- Sharaf M.A., Kowalski B.R., Anal. Chem. **53**, 518 (1981)
- Sharaf M.A., Kowalski B.R., Anal. Chem. **54**, 1291 (1982)
- Sharaf M.A., Illman D.L., Kowalski B.R., Chemometrics, Chemical Analysis Series Vol. 82, Wiley, New York, (1986)
- Voorhees K.J., Tsao R., Anal. Chem. **57 (8)**, 1630 (1985)

Apparativer Aufbau des verwendeten MS-Sensorsystems

- Edelmann C., Vakuumphysik – Grundlagen, Vakuumerzeugung und –messung, Anwendungen, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, S. 54 und S. 154, (1998)
- Göke G., Chromatographia **3**, 376 (1970)
- Patentschrift DE 19713194C2, Verfahren und Anordnung zum Erkennen von Eigenschaften einer Probe auf der Basis der Massenspektrometrie, (1999)
- Pauschmann H., Chromatographia **5**, 622 (1972)

Fettverderb

- Badings H.T., Ned Melk-Zuiveltijdschr **24**, 147 (1970)
- Belitz H.D., Grosch W., Lehrbuch der Lebensmittelchemie, Springer Verlag, Berlin, S. 580, (1992a)
- Belitz H.D., Grosch W., Lehrbuch der Lebensmittelchemie, Springer Verlag, Berlin, S. 186, (1992b)
- Dixon M.D., Hammond E.G., J. Am. Oil Chem. Soc. **61**, 1452 (1984)
- Dupuy H.P., Rayner E.T., Wadsworth J.I., Legendre M.G., J. Am. Oil Chem. Soc. **54**, 445 (1977)
- Evans C.D., List G.R., Hoffman R.L., Moser H.A., J. Am. Oil Chem. Soc. **46**, 501 (1969)
- Forss D.A., Prog. Chem. Fats Other Lipids **13**, 177 (1973)
- Frankel E.N., Prog. Lipid Res. **19**,1 (1980)
- Gray J.I., J. Am. Oil Chem. Soc. **55**, 539 (1978)
- Grosch W., Lipid degradation products and flavour, in : Morton I.D., MacLeod A.J. (Hrsg.) Food flavours, Part A. Elsevier Scientific Publ, Amsterdam, S. 325, (1982)
- Grosch W., Reactions of hydroperoxides-products of low molecular weight., in : Chan (Hrsg.) Autoxidation of unsaturated lipids, Academic Press, London, S. 95, (1986)
- Gray J.I., JAOCS **55**, 539 (1978)

- Gray J.I., Chemical Methods for Measuring Oxidation, in: Min D.B., Smouse T.H (Hrsg.) Flavor Chemistry of Fats and Oils, American Oil Chemists' Society, S. 226 (1985a)
- Gray J.I., Chemical Methods for Measuring Oxidation, in: Min D.B., Smouse T.H (Hrsg.) Flavor Chemistry of Fats and Oils, American Oil Chemists' Society, S. 228 (1985b)
- Guth H., Grosch W., Lebens.-Wiss. U. Technol. 23, 513 (1990)
- Hall G., Andersson J., Lebensm.-Wiss. u. -Technol. 16, 354 (1983a)
- Hall G., Andersson J., Lebensm.-Wiss. u. -Technol. 16, 362 (1983b)
- Holm U., Abstracts of the World Congress of the International Society of Fat Research, Göteborg, Sweden, June 1972
- Holm U., Ekbohm K., Wobe G., J. Am. Oil Chem. Soc. 34, S. 606 (1967)
- Meijboom P.W., Jongenotter G.A., J. Am. Oil Chem. Soc. 58, 680 (1981)
- O'Connor R.J., J. Am. Oil Chem. Soc. 33, 1 (1956)
- Scholz R.G., Ptak L.R., J. Am. Oil Chem. Soc. 43, 596 (1966)
- Ullrich F., Grosch W., Z Lebensm. Unters. Forsch. 184, 277 (1987)
- Rychlik M., Schieberle P., Grosch W., Compilation of Odor Thresholds, Odor Qualities and Retention Indices of Key Food odorants, Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie und Institut für Lebensmittelchemie der Technischen Universität München, München (1998)
- Warner K., Evans C.D., Dupuy P., Wadsworth J.I., Goheen G.E., JAOCS 55, 252 (1978)
- Wheeler D.H., Oil Soap 9, 89 (1932)

Gewürznelken

- Analytical Methods Committee, Analyst 109, 1343-1360 (1984)
- Bauer K., Garbe D., in Ullmann's Enzyklopädie der Technischen Chemie, Bd. 20, 4. Aufl., Verlag Chemie, Weinheim, S. 199-288, (1981)
- Deyama T., Horiguchi T., Yakagaku Zasshi 91, 1383-1386 (1971) vgl. CA 76: 49814b
- Gerhardt U., Gewürze in der Lebensmittelindustrie, Behr's Verlag, Hamburg, (1990)
- Gopala-Krishnan M., Nirmala-Menon, Mathew A.G., Journal of Food Science and Technology, India 19 (5), 190 (1982)
- Heath H.B., Flavor Technology, Avi Publ. Corp. Westport/Conn., S. 145-150, (1978)
- Knobloch K., Pauli A., Iberl B., Weis N., Weigand H., in Schreier P. (Hrsg.), Bioflavour '87, de Gruyter, Berlin, S. 287-299, (1988)
- Koller W., Z. Lebensm. Unters.-Forsch. 169, 457-461 (1979a)
- Koller W., Z. Lebensm. Unters.-Forsch. 169, 462-463 (1979b)
- Koller W., Z. Lebensm. Unters.-Forsch. 168, 102-105 (1979c)
- Kollmannsberger H., Nitz S., Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm. 16 (3/4), 112-123 (1994)
- Lewis Y.S., Spices and Herbs for the Food Industry, Food Trade Press, Orpington U.K. S. 93-98, (1984)

- Martinez Nadal N.G., Montalvo A.E., Seda M., *Cosmetics and Perfumery* **88**, 37-38 (1973)
- Melchior H., Kastner H., *Gewürze*, Parey, Berlin-Hamburg, S. 139-145, (1974)
- Moyler D.A., in Lawrence B.M., Mookherje B.D., Willis B.J. (Hrsg.), *Flavours and Fragrances: A World Perspective*, Elsevier, New York, S. 41-63, (1988)
- Müller A., *Die physiologischen und pharmakologischen Wirkungen der etherischen Öle, Riechstoffe und verwandter Produkte*, Hüthig, Heidelberg, S. 61-62 und S. 89-90, (1951)
- Nirmala A., Narayanan C.S., *Flavour and Fragrance Journal* **7**, 155-157 (1992)
- Parry J.W., *Spices*, Vol. I, 182-184, Chem. Publ. Comp., New York, (1969)
- Pauli A., Knobloch K., *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* **185**, 10-13 (1987)
- Richard H.M.J., in Maarse H. (Hrsg.), *Volatile Compounds in Foods and Beverages*, M. Dekker, New York, S. 411-447, (1991)
- Salzer U.J., *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **9**, 345-373 (1977)
- Suresh P., Ingle V.K., Vijayalakshmi V., *Journal of Food Science and Technology, India* **29**, 254 (1992); vgl. FSTA 25:1T46 (1993)
- Wagner H., *Pharmazeutische Biologie*, Fischer Verlag, Stuttgart, 4.Aufl., S. 81, (1988)
- Walter R.H., *Phytochemistry* **11** (1), 405 (1972)
- Ziegler E., *Die natürlichen und künstlichen Aromen*, Hüthig, Heidelberg, S. 81-83, (1982)

Rosenöle

- Anac O., *Perfum. Flav.* **9**, 1 (1984)
- Bayrak A., Akguel A., *J. Sci. Food Agric.* **64** (4), 441 (1994)
- Brunke E.J., Hammerschmidt F.J., Schmaus G., *Flavour Fragrance J.* **7** (4), 195 (1992)
- Buccelato F., *Perf. Flav.* **5**, 29 (1980)
- Büchi G., Kováts E. sz., Enggist P., Uhde G., *J. Org. Chem.* **33**, 1227 (1968)
- Garnero J., *Rivista Ital.* **58**, 548 (1976)
- Garnero J., *Parf. Cosm. Sav.* **47**, 31 (1982)
- Gildemeister E., Hoffmann F., *Die ätherischen Öle*, Band 5, Akademie-Verlag, Berlin, (1959)
- Guenther E., *The Essential Oils*, Vol. 5, D. Van Nostrand Co., New York, (1952)
- Gora J., Lis A., Kalembe D., *J. Essent. Oil Res.* **7** (1), 89 (1995)
- Hadjieva P., Sandra P., Stoianova-Ivanova B., Verzele M., *Riv. Ital.* **62**, 367 (1980)
- Kainulainen P., Tarhanen J., Tiilikkala K., Holopainen J.K., *J. Agric. Food Chem.* **46** (9), 3780 (1998)
- Knapp H., Straubinger M., Fornari S., Oka N., Watanabe N., Winterhalter P., *J. Agric. Food Chem.* **46** (5), 1966 (1998)
- Kollmannsberger H., mündliche Mitteilung unveröffentlichter Ergebnisse (1999)
- Kováts E., *J. Chromatogr.* **406**, 185 (1987)

- Kükçüoğlu M., Production and Analysis of Turkish Rose Oil, MS thesis, Medicinal Plant Research centre, Anadolu University, Eskisehir, Türkei, (1988), zitiert nach Bayrak A., J. Sci. Food Agric. **64**, 441 (1994)
- Lawrence B.M., Perfum. Flavor. **16** (3), 43 (1991)
- Lawrence B.M., Perfum. Flavor. **22** (3), 57 (1997)
- Masada Y., Analysis of Essential Oils by Gas Chromatography and Mass Spectrometry, John Wiley, New York, (1976)
- Müller A., Parfüm. Kosmet. **56**, 132 (1975)
- Nakamura S., Perfum. Flavor. **12** (3), 43 (1987)
- Naves Y.R., Technologie et Chimie des Parfums Naturels, Masson, Paris, (1974)
- Nikolov N., Trouttsoulova A., Nonov N., Rivista Ital. **58**, 349 (1976)
- Nishimura K., Sakay T., Hirose Y., J. Chem. Soc. Jpn, Pure Chem. Sect. **83**, 745 (1962) [zitiert nach: Lawrence B. M., Perfum. Flavor. **16** (3), 43 (1991)]
- Ohloff G., Demole E., J. Chromatogr. **406**, 181 (1987)
- Ohloff G., Giersch W., Schulte-Elte K.H., Kováts E. sz., Helv. Chim. Acta **52**, 1531 (1969)
- Rapp A., Nahrung-Food **42** (6), 351 (1998)
- Rapp A., Güntert M., Heimann W., Z. Lebensm. Untersuch. Forsch. **181**, 357 (1985)
- Römpps Lexikon Lebensmittelchemie, Eisenbrand G., Schreier P. (Hrsg.), Georg Thieme Verlag Stuttgart, S. 3919, (1995)
- Rychlik M., Schieberle P., Grosch W., Compilation of Odor Thresholds, Odor Qualities and Retention Indices of Key Food odorants, Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie und Institut für Lebensmittelchemie der Technischen Universität München, München (1998)
- Sch. W., Riechstoffe, Aromen, Körperpflegemittel **32**, 1982
- Seidel C.F., Felix D., Eschenmoser A., Biemann K., Palluy E., Stoll M., Helv. Chim. Acta **44**, 598 (1961)
- Sood R.P., Singh B., Singh V., J. Essent. Oil Res. **4**, 425 (Jul/Aug 1992)
- Surburg H., Guentert M., Harder H., in: Bioactive Volatile Compounds from plants; Teras-hini R., Buttery R.G., Sugishawa H. (Hrsg.); ACS Symposium Series 525; American Chemical Society: Washington DC; S. 168-186, (1993)
- Tucker A.O., Maciarello M., in : Flavors and Fragrances 1988: a world perspective Washington DC, Nov 16-20, 1986; Lawrence B.M., Mookherje B.D., Willis B.J. (Hrsg.); Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1988
- Ueyama Y., Hashimoto S., Nii H., Fukurawa K., Flavour Fragrance J. **5**, 115 (1990)
- Williams P.J., Strauss C.R., Wilson B., Dimitriadis E., in: Topics in Flavour Research; Berger R.G., Nitz S., Schreier P. (Hrsg.); H. Eichborn: Marzling, Deutschland, S. 335-352, (1985)

Kork

- Amon J.M., Vandeppeer J.M., Simpson R.F., Wine Ind. J. **4**, 62 (1989)
- Binder S., Untersuchungen zur Möglichkeit des Nachweises von 2,4,6-Trichloranisol in Kork mittels eines MS-Sensors, Semesterarbeit, TU München-Weihenstephan, (1998)
- Buser H.-R., Zanier C., Tanner H., J. Agric. Food Chem. **30**, 359 (1982)
- Charpentier M., Rev. Franc. Oenol. **16**, 60 (1977)
- Crosby D.G., Pure and Appl. Chem. **53**, 1051 (1981)
- Daly N.M., Lee T.H., Fleet G.H., Food Technol. Australia **36** (1), 22 (1984)
- Davis C., Fleet G.H., Lee T.H., Aus. Grapegrower Winemaker **208**, 42 (1981)
- Dieckmann J., Dtsch. Weinmagazin **16/17**, 26 (1997)
- Dürr P., Wine Quality Evaluation, Vortrag anlässlich des Symposiums Cool Climate Viticulture and Enology; Eugene, Oregon, USA, Juni 1984
- Fischer C., Fischer F., J. Agric. Food Chem. **45**, 1995 (1997)
- Fleck P., Wynboer **512**, 6 (1974)
- Guillemonat A., Bull. Fac. Sci. Marseille, 45 (1960)
- Heimann W., Rapp A., Völter I., Knipser W., Dtsch. Lebensm. Rundsch. **79** (4), 103 (1983)
- Hoffmann D., in: Geisenheimer Betriebsleiter-Tagung „Kellerwirtschaft“, Eltville, 22. und 23. Juni 1992
- Holloway P.J., Chem. Phys. Lipids **9**, 158 (1972)
- Joubert, M., Wynboer **598**, 4 (1981)
- Köhler H., Schindler E., Curschmann U., Millenberger R., Dt. Weinmagazin **36**, 30 (1993)
- Kugler D., Gaschromatographisch-Massenspektrometrische Untersuchungen zur Aufklärung von Korkton in Wein, Dissertation, TH Karlsruhe, (1993)
- Lee T.H., Simpson R.F., Microbiology and chemistry of cork taints in wine, in: Wine Microbiology and Biotechnology; Fleet G.H. (Hrsg.), Harwood Academic Publishers, Chur, Schweiz, (1993)
- Lemperle E., in : Jahresversammlung der Arbeitsgemeinschaft der Weingüter und selbstvermarktenden Weinbaubetriebe im Badischen Weinbauverband am 13. September 1988
- Lefebvre A., Riboulet J.-M., Boidron J.-N., Ribereau-Gayon P., Sciences des Aliments **3**, 265 (1983)
- Lexikon der Biologie, Band 5, Herder Verlag, Freiburg, S. 110, (1984)
- Maarse H., Nijssen L.M., Jetten J., in: Topics in Flavour Research; Berger R.G., Nitz S., Schreier P. (Hrsg.); H. Eichborn: Marzling, Deutschland, S. 242-250, (1985)
- Marais P.G., Kruger M.M., Phytophylactica **7**, 115 (1975)
- Maujean A., Millery P., Lemaesquier H., Rev. Franc. Oenol. **99**, 55 (1985)
- Moreau M., Rev. Franc. Oenol. **16**, 63 (1977)
- Moreau M., Rev. Mycol. **42**, 155 (1978)
- Rocha A., Delgadillo I., Ferrer Correia A.J., J. Agric. Food Chem **44**, 865 (1996a)
- Rocha A., Delgadillo I., Ferrer Correia A.J., J. Agric. Food Chem **44**, 872 (1996b)

- Rott B., Nitz S., Korte F., J. Agric. Food Chem. **27** (2), 306 (1979)
- Schanderl H., Allg. Dtsch. Weinfachzeitung **107** (13/14), 334 (1971)
- Schaeffer A., Meyer J.P., Rev. Franc. Oenol. **16**, 68 (1977)
- Simpson R.F., Amon J.M., Daw A.J., Food Technol. Aust. **38** (1), 31 (1986)
- Tanner H., Zanier C., Weinwirtschaft **22**, 608 (1978)
- Tanner H., Zanier C., Mitt. Geb. Lebensm. Hyg. **71**, 62 (1980)
- Tanner H., Zanier C., Buser H. R., Schweiz. Zt. Für Obst- und Weinbau **117**, 97 (1981)
- Weiss U.M., Scheunert I., Klein W., Korte F., J. Agric. Food Chem. **30** (6), 1191 (1982)
- Whitfield F.B., Shaw K.J., Nguyen T.H.L., J. Sci. Food Agric. **37**, 85 (1986)
- Wiedemann K., in: Ullmann Encyclopädie der technischen Chemie, Bartholome E., Bieker E., Hellmann H., Ley H., Weigert W.M., Weise W. (Hrsg.), Verlag Chemie, Weinheim, Band 14, S. 715, (1977)
- Weyand E., Der Deutsche Weinbau **25-26**, 1144 (1987)
- Zehnder H.J., Buser H. R., Tanner H., Dtsch. Lebensm. Rundschau **80** (7), 204 (1984)

Hopfen

- Belitz H.D., Grosch W., Lehrbuch der Lebensmittelchemie, Springer Verlag, Berlin, S. 807, (1992)
- Bellmer H.G., Brauwelt **121**, 240 (1981)
- BATTERY R.G., McFadden W.H., Black D.R., Kealy M.P., ASBC Proceedings, 137 (1964)
- De Keukeleire D., J. Inst. Brew. **104**, 75 (1998)
- Esslinger H.M., Brauwelt **127**, 868 (1987)
- Forster A., „The characterisation and classification of hop varieties“, EBC Symposium on Hops, Zoeterwoude/Niederlande, May/Juni 1994, Hans Carl Verlag, Nürnberg, (1994)
- Freundorfer J., Brauwiss. **8**, 312 (1988)
- Freundorfer J., Rechnergestützte Verfahren zur Sortenerkennung bei Hopfen und Hopfenprodukten auf der Basis der ätherischen Öle, Dissertaton, TU München, (1990)
- Freundorfer J., Maier J., Reiner L., Brauwiss. **5**, 176 (1991a)
- Freundorfer J., Maier J., Reiner L., Brauwiss. **6**, 221 (1991b)
- Gresser A., Beiträge zur Kenntnis der Hopfenaromastoffe unter besonderer Berücksichtigung technologischer Verfahren, Dissertation, TU München-Weihenstephan, (1985)
- Hautke P., Petricek D., J. Inst. Brew. **73**, 51 (1967)
- Hautke P., Petricek D., Brauwiss. **26**, 193 (1973)
- Howard G.A., J. Inst. Brew. **63**, 126 (1957)
- Howard G.A., Slater A.R., J. Inst. Brew. **63**, 491 (1957)
- Krauß G., Brauwiss. **31**, 396 (1978)
- Kretschmer H., Brauwelt **122**, 676 (1982)
- Likens S.T., Nickerson G.B., ASBC Proceedings 1965, 23 (1965)
- Maier J., Brauwiss. **19**, 425 (1966)

- Maier J., Brauwiss. **22**, 231 (1969)
- Maier J., Hopfen-Rundschau **21**, 294 (1970)
- Maier J., Hopfen-Rundschau **28**, 140 (1977a)
- Maier J., Hopfen-Rundschau **28**, 331 (1977b)
- Maier J., „Qualität, Chemie und Technologie des Hopfens“, Jahresbericht 1977 der Bayerischen Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau und der Deutschen Gesellschaft für Hopfenforschung, (1978)
- Maier J., Hop Varieties in West Germany: Additional description by Chemical Characteristics, EBC Monograph-XIII, Hans Carl, Nürnberg, S. 2-14, (1988)
- Narziß L., Abriß der Bierbrauerei, Ferdinand Enke: 4. Auflage, Stuttgart, (1980)
- Narziß L., Reicheneder E., Forster A., Brauwelt **113**, 1345 (1973)
- Narziß L., Bellmer H.G., Brauwiss. **28**, 285 (1975)
- Narziß L., Miedaner H., Gresser A., Brauwelt **36**, 1794 (1985)
- Narziß L., Miedaner H., Gresser A., Brauwelt-International, 17 (1986)
- Naya Y., Kotake M., Bull. Chem. Soc. Japan **44**, 3116 (1971)
- Naya Y., Kotake M., Bull. Chem. Soc. Japan **45**, 2887 (1972)
- Nickerson G.B., Williams P.A., Haunold A., J. ASBC **44**, 91 (1986)
- Piendl A., Schneider G., Brauwelt **121**, 724 (1981)
- Pickett J.A., Coates J., Sharpe F.R., EBC Proceedings 1975, 123 (1975)
- Rigby F.L., Bethune J.L., ASBC Proceedings, 174 (1955)
- Schmidt K., Die deutschen Hopfensorten, Hopfen-Verlag, Wolnzach, (1963)
- Schuster K., Die Technologie der Würzezubereitung, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, S. 67, (1992)
- Seeleitner G., Seif P., Püspök J., EBC Proceedings 1985, 571 (1985)
- Sumere van C., Vande Casteele K., Hutsebaut H., Everaert E., Looman de L., Meulemans W., RP-HPLC Analysis of Flavonoids and the Biochemical Identification of Hop Cultivars, EBC Monograph-XIII, Hans Carl, Nürnberg, S. 146-175, (1988)
- Tressl R., Engel K.H., Kossa M., Köppler H., J. Agric. Food Chem. **31**, 892 (1983)
- Wackerbauer K., Balzer U., Mschr. F. Brauwiss. **41**, 252 (1988)
- Weihrauch E., Gaschromatographische Untersuchungen an Hopfenölen, Diplomarbeit, TU München-Weihenstephan, (1976)
- Zattler F., Maier J., Brauwelt **106**, 697 (1966)
- Zattler F., Maier J., Brauwelt **108**, 351 (1968)
- Zeidler C., unveröffentlichte Ergebnisse, 1999

Ausblick

- Craven M.A., Gardner J.W., Bartlett P.N., trends in analytical chemistry **15(9)**, 486 (1995)
- Curry B., Rumelhart D.E., Tetrahedron Comput. Methodol. **3**, 213 (1990)

- Dunn W.J., Emery S.L., Glen W.G., Scott D.R., Environ. Sci. Technol. **23 (12)**, 1499 (1989)
- Gardner J.W., Bartlett P.N., Sensors and Actuators B **18-19**, 211 (1994)
- Ikegami A., Kaneyasu M., Olfactory detection using integrated sensors, Proc. 3rd Int. Conf. Solid-State Sensors and Actuators (Transducers '85), Philadelphia, PA, USA, June 7-11, S. 136 (1985)
- Kaneyasu M., Ikegami A., Arima H., Iwanga S., IEEE Trans. Components, Hybrid Manufact. Technol., CHMT-10, 287 (1987)
- Justice J.B., Isenhour T.L., Anal. Chem. **46(2)**, 223 (1974)
- Pearce T.C., BioSystems **41**, 69 (1997a)
- Pearce T.C., BioSystems **41**, 43 (1997b)
- Persaud K., Dodd G., Nature **299**, 352 (1982)
- Ranson C.F., Belitz H.-D., Z. Lebensm. Unters. Forsch. **195**, 515 (1992)
- Schweizer-Berberich M., Harsch A., Göpel W., tm –Technisches Messen **62**, 6 (1995)

Experimenteller Teil

- Wheeler D.H., Oil Soap **9**, 89 (1932)
- Zeidler C., unveröffentlichte Ergebnisse, 1999