

Automatisierte Auswertung chromatographischer Daten für die Bewertung von Whisky

Helen Haug¹, Satnam Singh¹, Andreas Grasskamp¹ und Tilman Sauerwald¹

*¹Fraunhofer-Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung IVV, Freising, Deutschland
Kontakt: helen.haug@ivv.fraunhofer.de*

Einleitung

In der chemischen Analytik spielt die Identifizierung unbekannter Moleküle im Bereich unterschiedlicher Anwendungen eine wichtige Rolle. Einen Anwendungsfall hierfür stellt die Aromaanalytik dar. Bestandteil hiervon ist u.a. die Identifizierung enthaltener geruchsaktiver Verbindungen, bspw. zur Entschlüsselung des Aromas von Lebensmitteln [1–4]. Dabei finden verschiedene, teilweise sehr aufwändige Verfahren zur Identifizierung und Bewertung der Geruchskomponenten statt. Im Rahmen gaschromatographischer (GC) Analysen werden zur Identifizierung geruchsaktiver Verbindungen häufig drei Faktoren betrachtet: Retentionsindices (RI), Geruchsmerkmale und Massenspektren (MS) [1–4]. Retentionsindices bieten eine Möglichkeit zur Darstellung des Retentionsverhaltens der Analyten durch die Standardisierung mit einer Standardreihe (i.d.R. Alkane) [5]. Die Geruchsmerkmale werden durch den Einsatz eines Olfaktometrie-Ports, welcher als zusätzlicher Detektor am Gaschromatographen (GC) dient, durch den Anwender bestimmt [1,2]. Die MS der Analyten werden entsprechend durch die Kopplung des GC mit einem Massenspektrometer (GC-MS) generiert. Die Auswertung der GC-Daten stellt dabei einen zeitintensiven Schritt dar, bei welchem neben entsprechenden Software-Anwendungen (bspw. AMDIS [6–8]), geeigneten Datenbanken (DB) bzw. Referenzen für RI und MS [2,8–10] die Erfahrung von Experten zum Einsatz kommt.

Ziel der vorgestellten Arbeiten ist daher die Entwicklung und Bewertung von Methoden zur effizienten Aufnahme und Auswertung von GC-Daten. Zum einen werden dabei analytische Methoden für eine möglichst zeit- und kostensparende Analyse fokussiert. Zum anderen soll die Bewertung mittels GC vermessener Proben durch die Entwicklung einer anwendungsorientierten Software unterstützt werden. Diese soll zunächst die zuverlässige Erkennung und Zuordnung enthaltener Komponenten ermöglichen. Als Anwendungsbeispiel der vorgestellten Arbeiten dient die Untersuchung flüchtiger (Aroma-)Komponenten in Whisky. Eine Vielzahl von Molekülen trägt zum typischen Aroma der Spirituose bei. Neben einigen unterschiedlichen Geruchseigenschaften ist dabei eine große Bandbreite an

Substanzklassen sowie entsprechend unterschiedliche Retentionsverhalten festzustellen [1,9,11]. Zur Analyse der flüchtigen Whisky-Komponenten wurde eine Probenahme unter Einsatz der sog. *Stir Bar Sorptive Extraction* (SBSE) entwickelt. Durch Immersion eines mit einem Polymermaterial beschichteten Rührfischs (Twister®, Gerstel GmbH & Co. KG, Mühlheim a. d. R., DE) in die Probe reichern sich die Analyten im Sorbens an [12]. Unterschiedliche Studien nutzten diese Methode bereits zur Analyse flüchtiger (Aroma-)verbindungen in alkoholischen Getränken [2,13,14]. Im Sinne der Entwicklung effizienter Methoden zur Bewertung des Whisky-Aromas werden neben einer automatisierten Auswertung entsprechende Probenaufarbeitungsmethoden gewählt. Bei Einsatz einfacher Aufarbeitungs- und Analysemethoden soll zugleich eine hohe Datenqualität gewährleistet werden. Am Anwendungsbeispiel des Whiskys ist hier die Abbildung von für das Aroma relevanten Verbindungen entscheidend, da nur so durch die automatisierte Auswertung eine Bewertung der Probe plausibel wird. Die Darstellung einer möglichst großen Anzahl an Verbindungen bei gleichzeitig ausreichender Trennleistung bzw. der Optimierung von Möglichkeiten zur Datenaufarbeitung ist dabei ein wichtiges Ziel. Die Parameter der Probenahme sollen somit anhand der Eignung zur effizienten Abbildung relevanter Verbindungen bewertet werden.

Methoden und Materialien

Methodenauswahl und Probenaufarbeitung

Es wurden drei verschiedene, kommerziell erhältliche Whiskys (2 Scotch, 1 Bourbon) analysiert. Der Alkoholgehalt der Scotch Whiskys betrug 40,0 % vol., der des Bourbon 50,5 % vol. Zur besseren Vergleichbarkeit wurde letzterer mit Trinkwasser auf 40 % vol. verdünnt. Anschließend wurde jeweils 1 mL der Proben mit deionisiertem Wasser auf 5 mL aufgefüllt. Hiervon wurden 2 mL für die Analyse entnommen.

Zur Anreicherung der Aromastoffe wurden mit PDMS beschichtete Twister® (Gerstel GmbH & Co. KG, Mühlheim a. d. R., DE) mit einer Länge von 1 cm und 0,5 mm Schichtdicke verwendet. Diese wurden zunächst unter Stickstoffstrom bei 280 °C für 1 h konditioniert. Anschließend wurden

die Twister® blind vermessen, um die Probenmessungen entsprechend abzugleichen.

Die Proben wurden in ein Glasgefäß mit Schraubverschluss gegeben und für 1 h mit jeweils einem Twister extrahiert. Im Anschluss wurden die Twister® aus der Probe entnommen, kurz in deionisiertes Wasser getaucht und anschließend mit einem fusselfreien Tuch getrocknet. Die Twister® wurden bis zur Messung in einem GC-Vial aufbewahrt.

Vergleichsproben

Zur Überprüfung der Peakerkennung und -identifizierung wurde ein Gemisch aus acht Aromastoffen angesetzt und mittels GC-MS analysiert. Hierfür wurde eine Lösung von 3-Methylbutanol, Ethyl-Hexanoat, Ethyl-Nonanoat, Ethyl-Decanoat, 2-Phenylethanol, γ -Nonalacton und 2-Methoxyphenol (jeweils Sigma-Aldrich, Steinheim, DE) sowie Vanillin (ABCR, Karlsruhe, DE) mit Konzentrationen im Bereich von ca. 2 – 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ in Dichlormethan (DCM) angesetzt.

GC-MS Messungen

Die GC-MS Messungen wurden an einem Trace GC Ultra und DSQ II MS (jeweils Thermo Fisher Scientific GmbH, Dreieich, DE) durchgeführt. Zur Auftrennung der Analyten wurde eine DB-FFAP Säule (22 m x 0,25 mm, Schichtdicke 0,25 μm ; J & W Scientific, Agilent Technologies, Waldbronn, DE) mit vorgeschalteter Vorsäule (unbeschichtete, *fused silica* Säule 3-5 m x 0,53 mm) eingesetzt. Die Ofentemperatur des GC wurde zu Beginn für 2 Minuten auf 40°C gehalten, anschließend mit 8°C/min auf 235°C hochgeheizt und für 5 Minuten gehalten. Die Temperatur der *Transfer Line* zum MS wurde auf 250 °C gesetzt, das MS wurde im EI (*electron ionization*)-Modus bei 70 eV betrieben, die Temperatur der Ionenquelle wurde auf 200°C eingestellt. Die Detektion erfolgte im *Full Scan* Modus (m/z Bereich 35-399).

Die Twister® wurden zur Übertragung der Analyten in das GC-MS System in vorkonditionierte Glas-Desorptionsröhrchen gegeben, welche mit einem entsprechenden Transportadapter verschlossen wurden. Für die Ermittlung der RI-Werte wurden 2 μL eines Alkangemischs (C_6 - C_{26}) in DCM in ein *Micro-Vial* Einsatz pipettiert, welches in ein Desorptionsröhrchen gegeben wurde. Die Thermodesorption der Proben wurde mithilfe einer *Thermal Desorption Unit* (TDU; Gerstel GmbH & Co. KG, Mühlheim a. d. Ruhr, DE) durchgeführt. Die Starttemperatur betrug 40°C, wobei zunächst ein *solvent vent* (0,5 min, 40°C) eingestellt wurde. Anschließend wurde die TDU mit einer Geschwindigkeit von 120°C/min auf 280°C erhitzt und dort 5 bzw. 8 min gehalten. Der Heliumfluss über die TDU wurde auf

50 mL/min eingestellt. Die Analyten wurden auf das Kaltaufgabesystem (KAS 3, Gerstel GmbH & Co. KG, Mühlheim a. d. Ruhr, DE) überführt (270°C) und dort mittels Cryo-Kühlung bei -50°C fokussiert. Anschließend wurde das KAS mit einer Rate von 12°C/s auf 280°C hochgeheizt.

Die Vermessung der Vergleichsproben erfolgte auf dieselbe Weise, indem 3 μL der Lösung in ein *Micro-Vial* Einsatz eines Desorptionsröhrchens pipettiert und analysiert wurden.

Experten-Auswertung mit AMDIS

Die qualitative Auswertung der GC-MS Daten erfolgte unter Verwendung der AMDIS Software (Version 2.73, 2017). Über das Programm wurden unter Verwendung entsprechender Alkanmessungen die RI-Werte der durch die Software erkannten Komponenten ermittelt und automatisch mit einer hauseigenen, mittels AMDIS erstellten, RI/MS Aromastoff-DB mit rund 700 Verbindungen abgeglichen. Diese DB wird fortlaufend um relevante Analyten ergänzt, um eine möglichst hohe Identifizierungsquote zu erreichen. Dazu wurden gezielt Literaturdaten für Whisky ausgewertet und entsprechende Verbindungen ergänzt. Im Rahmen der Auswertung wurden die extrahierten Spektren zusätzlich mit der NIST-DB (Version 2.3, 2017) abgeglichen. Bei der Auswertung durch den Experten mittels AMDIS wurden verschiedene Faktoren berücksichtigt: Abweichung des RI-Wertes, Reinheit nach AMDIS, *net match factor* nach AMDIS und *match factor* nach NIST. Die zur Beurteilung angewandten Grenzwerte finden sich in Tab. 1.

Vergleich mit Literaturdaten

Um einen Überblick über häufig auftretende bzw. relevante flüchtige Verbindungen in Whisky zu schaffen, wurden Literaturdaten ausgewertet. Anhand von 21 Berichten [1,8–11,13,15–29] zur Beschreibung sowie Untersuchung von Whisky wurde eine applikationsspezifische DB volatiler Komponenten zusammengestellt, welche entsprechend ihrer Häufigkeit kategorisiert wurden. Dies beinhaltet Studien zur Analyse von Whisky, u.a. unter Einsatz unterschiedlicher Probenaufarbeitungstechniken, darunter SBSE [13,16,22], *Solid Phase Micro-extraction* (SPME; bspw. [11,13]) sowie eine umfassende Beschreibung des Whisky-Aromas im Rahmen der Darstellung des Whisky-Flavour Wheels [26]. Beschrieben wurden dabei verschiedene Sorten Whisky: Scotch [9–11,13,15–18,20–25,27–29], Irish Whiskey [24] sowie Bourbon / American Whiskey [1,9]. Die Verbindungen wurden gemäß der Häufigkeit ihrer Nennung kategorisiert. Kategorie 1 umfasst Analyten mit einer Häufigkeit von mind. 11 aus 21, Kategorie 2 beinhaltet alle

Verbindungen, welche mindestens sechsmal genannt wurden. Kategorie 3 umfasst entsprechend alle übrigen Analyten. Diese Vorgehensweise soll einen Überblick über häufig auftretende Verbindungen in Whisky geben. Verschiedene Faktoren sind jedoch zu beachten, wie u.a. anzunehmende Unterschiede zwischen verschiedenen Whisky-Sorten, die Fokussierung einiger Studien auf bestimmte Zielsetzungen (bspw. Analyten bzw. Aromamerkmale) und entsprechend nicht ganzheitliche Bewertung [20,21] sowie das Vorhandensein von nicht-aromaaktiven Verbindungen. Entsprechend wurde Kategorie 1 auf eine Häufigkeit von etwas über 50 % (11 aus 21) festgelegt.

Automatisierte Auswertung

Aus dem bereitgestellten Chromatogramm wurden Intensitätsmatrizen extrahiert, d. h. eine Matrix der Form *Anzahl der Scans x Bereich der m/z*. Danach wurde der Dekonvolutions-Algorithmus von Biller & Biemann [30] angewandt, um mit Hilfe der PyMSPython Bibliothek [31] eine erste Anzahl von erkannten Peaks zu erhalten. Diese Erkennungen bestehen jedoch aus einer großen Menge Rauschen und diese unerwünschten Peaks müssen daher entfernt werden.

Das Rauschen wird geschätzt und entfernt, indem ein gleitendes Fenster mit einem Schwellenwert verwendet wird, gefolgt von der Definition der minimalen Peak-Prominenz, die in diesem Fenster erforderlich ist. Dies ermöglicht die Unterscheidung zwischen dem tatsächlichen Peak und dem Rauschen. Zu diesem Zweck wurde die Python-Bibliothek SciPy verwendet [32].

Für die Berechnung der RI-Werte müssen jedoch Alkan-Referenzen angegeben werden. Das Verfahren zum Erkennen von Alkanen ist das gleiche wie oben beschrieben. Zur Identifizierung der Peaks, die aus den Chromatogrammen der Alkane herausgefiltert wurden, wird C17 aufgrund seiner erwarteten Lage und einer geringeren erwarteten Amplitude als Unterscheidungspeak verwendet, sodass andere Alkane identifiziert werden können, wenn dieser Peak bekannt ist.

Für die Identifikation unbekannter Spektren durch DB-Abgleich wurde auf bewährte Metriken zum Vergleich von MS zurückgegriffen. Unter anderem waren das die Pearson-Korrelation, Kosinus-Ähnlichkeit (auch *dot product* [33]) sowie der „*similarity score*“ (SIM [34]). In einer gewichteten Verlustfunktion wurde die Ähnlichkeit zweier MS mit dem Unterschied des RI der bekannten MS in der DB und dem des unbekanntes Moleküls wie folgt verrechnet (Gl. 1):

$$\text{loss} = \frac{2 \cdot (1 - \text{score}) + \text{abs}\left(\frac{RI_{db} - RI_{unk}}{RI_{unk}}\right)}{3} \quad (\text{Gl. 1})$$

Hierbei ist *loss* die Abweichung von einer perfekten Übereinstimmung (1), *score* ist der Ähnlichkeitswert zwischen zwei MS (unbekanntes MS und DB-Eintrag), und RI_{db} bzw. RI_{unk} jeweils der RI-Wert in der DB und der des unbekanntes Analyten. Als DB wurde wie auch bei der Experten-Auswertung mittels AMDIS dieselbe hauseigene RI/MS-DB hinzugezogen. Fehlende RI-Werte wurden über einen *polynomial fit* auf die RI-Werte der ermittelten Peaks bzw. deren Retentionszeiten extrapoliert.

Ergebnisse und Diskussion

Flüchtige Verbindungen in Whisky

Anhand der gesichteten Literaturdaten wurden die im Zusammenhang mit Whisky genannten Verbindungen aufgelistet und kategorisiert, um eine applikationsspezifische DB zu erstellen. Insgesamt wurden so ca. 320 Verbindungen zusammengetragen. Dabei konnten nach bestmöglicher Zuordnung der in der Literatur aufgeführten Verbindungen und deren Bezeichnungen 34 Analyten Kat. 2 und hiervon 8 Verbindungen Kat. 1 zugeordnet werden. Im Rahmen der Auswertung der analysierten Whiskys sowie der Bewertung der Darstellung relevanter Whisky-Komponenten wurden diese als häufige Verbindungen berücksichtigt. Die betrachteten Verbindungen der Kat. 1 sind bis auf wenige Ausnahmen in der hauseigenen DB implementiert und sollten daher mithilfe der Experten-Auswertung über AMDIS wiedergefunden werden.

Identifizierung von Aromastoffen in Whisky-Proben

Die Experten-Auswertung der Whisky-Proben mithilfe von AMDIS ergab eine Vielzahl verschiedener Aromakomponenten. Betrachtet wurde dabei der RI-Bereich zwischen 1100 und 2600. Die einzelnen Analyten wurden entsprechend ihrer Wahrscheinlichkeit der Identifizierung bewertet. Als mit hoher Wahrscheinlichkeit identifiziert wurden Verbindungen bezeichnet, die im Rahmen der Auswertung mit AMDIS die in Tab. 1 aufgeführten vier Kriterien in Kombination erfüllten. Während die RI-Abweichung sowie der NIST-Abgleich und die AMDIS *purity* jeweils einen Faktor beschreiben (RI bzw. MS-Übereinstimmung), nehmen zur Ermittlung des AMDIS *net match factor* mehrere Parameter Einfluss [6,35].

Darüber hinaus wurden weitere Verbindungen bei nicht-Erfüllen eines bzw. mehrerer Kriterien bis zu entsprechenden eigens festgelegten Grenzwerten als mit mäßiger Wahrscheinlichkeit identifiziert eingestuft. Analyten, welche bereits im Blindwert detektiert wurden, wurden bei der Bewertung ausgeschlossen. Des Weiteren wurden Verbindungen, bei welchen keine eindeutige Unterscheidung zwischen

Isomeren getroffen werden konnte, höchstens als mit mäßiger Wahrscheinlichkeit identifiziert gewertet. Insgesamt wurden damit in den drei analysierten Whiskys 12 (Scotch), 8 (Scotch) bzw. 11 (Bourbon) Verbindungen mit hoher Wahrscheinlichkeit identifiziert. Weitere 20 (Scotch) bzw. 15 (Scotch) und 16 (Bourbon) Analyten wurden anhand der in Tab. 1 aufgeführten Parameter mit mäßiger Wahrscheinlichkeit identifiziert.

Tab. 1: Bewertungsparameter mit AMDIS

| Parameter | Hohe Wahrscheinlichkeit der Identifikation | Mäßige Wahrscheinlichkeit der Identifikation |
|-------------------------------|--|--|
| RI-Abweichung | +/- 20 | +/- 25 |
| AMDIS <i>net match factor</i> | ≥ 80 | ≥ 60 |
| NIST <i>match factor</i> | ≥ 800 | ≥ 700 |
| <i>Purity</i> (AMDIS) | ≥ 20 | ≥ 5 |

Der Vergleich mit Literaturdaten zeigt, dass in den drei untersuchten Whiskys einige der häufig in Whisky festgestellten Verbindungen (Kategorie 2) mit mäßiger bzw. hoher Wahrscheinlichkeit identifiziert wurden. Zu den mit hoher Wahrscheinlichkeit identifizierten Verbindungen zählen insbesondere einige Ethyl-Ester, wie Ethyl-Octanoat, -Nonanoat und -Decanoat. Zu den mit mäßiger Wahrscheinlichkeit identifizierten Analyten zählen u.a. 3-Methylbutanol, 2-Phenylethylacetat, Whiskey-Lacton, Vanillin, Guajacol und Eugenol. Abb. 1 zeigt beispielhaft das Chromatogramm einer Whisky-Probe.

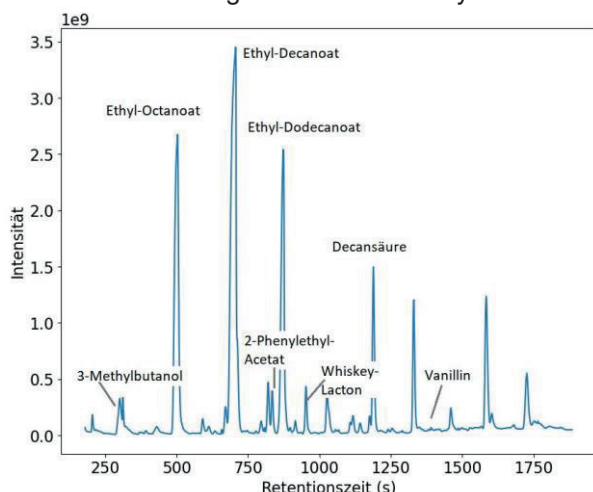


Abb. 1: GC-Chromatogramm und Ergebnis der Auswertung einer Whisky-Probe mittels AMDIS unter Angabe einiger mit hoher/mäßiger Wahrscheinlichkeit identifizierter Analyten.

Insbesondere Verbindungen im oberen Flüchtigkeitsbereich bzw. unteren RI-Bereich (< 1100),

konnten in den vorliegenden Proben nicht identifiziert werden.

Bewertung der gewählten Probenaufarbeitung

Die Auswertung der GC-MS Daten der drei Whiskys zeigt, dass mithilfe der gewählten Probenaufarbeitungsmethode SBSE unter Einsatz von PDMS-beschichteten Twistern® bei geringem zeitlichen Aufwand eine große Zahl von Aromastoffen aus den Proben extrahiert und analysiert werden kann. Unter den identifizierten Molekülen finden sich Moleküle unterschiedlicher Substanzklassen und Retentionsverhalten. Unter den detektierten Verbindungen findet sich eine Vielzahl typische Whisky-Komponenten wieder. Die Chromatogramme zeigen insbesondere hohe Intensitäten der Ethyl-Ester Ethyl-Octanoat und -Decanoat. Andere Analyten, wie Vanillin und Guaiacol sowie weitere phenolische Verbindungen weisen teilweise sehr geringe Intensitäten bzw. Reinheiten laut AMDIS auf. Demnach ist weiterhin zu untersuchen, inwiefern sich eine weitere Verdünnung der Proben zugunsten geringerer Intensitäten der Ethyl-Ester und etwaiger Überlagerungen auf die Extraktion und Detektion anderer Verbindungen auswirkt. Außerdem zu berücksichtigen ist der Zusammenhang zwischen Moleküleigenschaften und Ausbeute während der Extraktion mittels PDMS. Zu vermuten ist, dass insbesondere Verbindungen mit polaren Gruppen weniger stark im PDMS-Sorbens angereichert werden. Entsprechendes zeigen die Untersuchungen von Whisky mit Twistern® unterschiedlicher Beschichtung [22].

Automatisierte Auswertung einer Vergleichsprobe

Zum Funktionsnachweis und zur Bewertung unseres Auswertalgorithmus wurde eine Vergleichsprobe untersucht, für welche die „Ground Truth“ bekannt ist und die Messdaten wurden mit unserem semi-automatischen Ansatz verblindet analysiert. Zum Vergleich wurden die Daten ebenfalls mit AMDIS ausgewertet. Als erfolgreich zu bezeichnen wäre unsere Methode in diesem Fall, wenn sie alle in der Vergleichsprobe vorhandenen Analyten mit hoher Sicherheit identifiziert. In der Auswertung mit unserem semi-automatischen Ansatz konnten alle vorhandenen Analyten zuverlässig identifiziert werden, die auch in AMDIS gefunden wurden. Hierbei war es ausreichend, einen Grenzwert von 0.95 zu definieren, über dem die jeweilige Konfidenz lag ($1-loss$), wie in Tab. 2 dargestellt. Für die Substanzen in der relativ einfachen Matrix der Vergleichsprobe wird durchgängig eine wesentlich bessere Konfidenz ermittelt, dennoch könnte bei realen

Proben ein solch hoher Grenzwert in manchen Fällen zu hoch angesetzt sein und dazu führen, dass der Peak nicht identifiziert werden kann.

Die Peak-Erkennung und –Zuordnung im Chromatogramm ist in Abb. 2 dargestellt. Zu berücksichtigen ist, dass sowohl der erste als auch letzte Treffer (3-Methylbutanol und Vanillin) im Rahmen unserer automatisierten Auswertung mithilfe der RI-Extrapolation ermittelt wurde. Für den Fit anhand der ermittelten RI-Werte und Signale im Retentionszeit-Bereich der C11 bis C26 ergab sich Gl. 2 mit $a = 0,00026784$, $b = 0,7944$, $c = 933,5622$, $RT = \text{Retentionszeit [s]}$:

$$y = a \cdot RT^2 + b \cdot RT + c \quad (\text{Gl. 2})$$

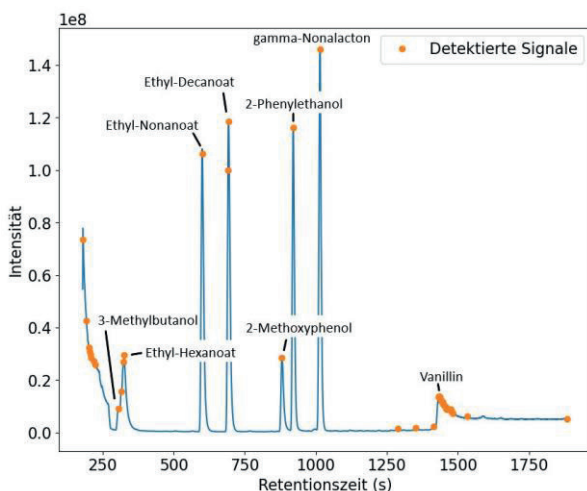


Abb. 2: Ergebnis der automatisierten Auswertung einer Vergleichsprobe mit Zuordnung der identifizierten Analyten.

Tab. 2: Ergebnis der semi-automatischen Auswertung, $RT = \text{Retentionszeit}$

| RT (min) | Identifizierter Analyt | Konfidenz | AMDIS net match factor |
|----------|------------------------|-----------|------------------------|
| 5.102 | 3-Methylbutanol | 0.9964 | 100 |
| 5.427 | Ethyl Hexanoat | 0.9903 | 78 |
| 10.015 | Ethyl Nonanoat | 0.9896 | 82 |
| 11.552 | Ethyl Decanoat | 0.9927 | 76 |
| 14.677 | 2-Methoxyphenol | 0.9936 | 90 |
| 15.340 | 2-Phenylethanol | 0.9961 | 80 |
| 16.903 | γ -Nonalacton | 0.9961 | 79 |
| 23.891 | Vanillin | 0.9633 | 61 |

Die vergleichsweise geringere Konfidenz bei der Zuordnung von Vanillin ist in beiden Fällen vermutlich auf Abweichungen zwischen ermitteltem und DB-RI zurückzuführen, was ggf. mit einer Retentionszeitverschiebung während der Analyse in Zusammenhang steht.

Trotz leichter Abweichungen in der Art, wie AMDIS MS aus Rohdaten extrahiert und in der Berücksichtigung von Unterschieden zwischen RI-Werten

in Analyt und DB, sind die Ergebnisse der Auswertung der beschriebenen Vergleichsprobe eindeutig. In beiden Verfahren (Expertenbewertung mit AMDIS und hier vorgestellte automatisierte Auswertung) werden die Stoffe korrekt identifiziert. Hieraus schließen wir, dass die entwickelte Methode zur automatisierten Identifikation der Analyten im präsentierten Beispiel zumindest so gut funktioniert wie die zum Vergleich herangezogene Vorgehensweise. Die entwickelte Methode soll im nächsten Schritt mit einer breiten Stichprobe von Realproben getestet und validiert werden.

Literatur

- [1] POISSON, L. ; SCHIEBERLE, P.: *Characterization of the Most Odor-Active Compounds in an American Bourbon Whisky by Application of the Aroma Extract Dilution Analysis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (2008), S. 5813–5819(14).
- [2] BUCK, N. ; GOBLIRSCH, T. ; BEAUCHAMP, J. ; ORTNER, E.: *Key Aroma Compounds in Two Bavarian Gins*. *Applied Sciences*, 10 (2020), S. 7269(20).
- [3] BADER, S. ; CZERNY, M. ; EISNER, P. ; BUETTNER, A.: *Characterisation of odour-active compounds in lupin flour*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89 (2009), S. 2421–2427(14).
- [4] SEYFRIED, C. ; GRANVOGL, M.: *Characterization of the Key Aroma Compounds in Two Commercial Dark Chocolates with High Cocoa Contents by Means of the Sensomics Approach*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67 (2019), S. 5827–5837(20).
- [5] D'ACAMPORA ZELLNER, B. ; BICCHI, C. ; DUGO, P.; . . . ; MONDELLO, L.: *Linear retention indices in gas chromatographic analysis: a review*. *Flavour and Fragrance Journal*, 23 (2008), S. 297–314(5).
- [6] MALLARD, W. G.: *AMDIS in the Chemical Weapons Convention*. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 406 (2014), S. 5075–5086(21).
- [7] STEIN, S. E.: *An integrated method for spectrum extraction and compound identification from gas chromatography/mass spectrometry data*. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 10 (1999), S. 770–781(8).
- [8] OWENS, J. E. ; ZIMMERMAN, L. B. ; GARDNER, M. A. ; LOWE, L. E.: *Analysis of Whiskey by Dispersive Liquid–Liquid Microextraction Coupled with Gas Chromatography/Mass Spectrometry: An Upper Division Analytical Chemistry Experiment Guided by Green Chemistry*. *Journal of Chemical Education*, 93 (2016), S. 186–192(1).
- [9] JELEŃ, H. H. ; MAJCHER, M. ; SZWENGLIEL, A.: *Key odorants in peated malt whisky and its differentiation from other whisky types using profiling of flavor and volatile compounds*. *LWT*, 107 (2019), S. 56–63.
- [10] DAUTE, M. ; JACK, F. ; BAXTER, I.; . . . ; WALKER, G.: *Comparison of Three Approaches to Assess the Flavour Characteristics of Scotch Whisky Spirit*. *Applied Sciences*, 11 (2021), S. 1410(4).
- [11] CÂMARA, J. S. ; MARQUES, J. C. ; PERESTRELO, R. M.; . . . ; CALDEIRA, M.: *Comparative study*

- of the whisky aroma profile based on headspace solid phase microextraction using different fibre coatings. *Journal of Chromatography a*, 1150 (2007), S. 198–207(1-2).
- [12] BALTUSSEN, E. ; SANDRA, P. ; DAVID, F. ; CRAMERS, C.: *Stir bar sorptive extraction (SBSE), a novel extraction technique for aqueous samples: Theory and principles. Journal of Microcolumn Separations*, 11 (1999), S. 737–747(10).
- [13] DEMYTTENAERE, J. C. ; SÁNCHEZ MARTINEZ, J. I. ; VERHÉ, R. ; SANDRA, P. ; KIMPE, N. de: *Analysis of volatiles of malt whisky by solid-phase microextraction and stir bar sorptive extraction. Journal of Chromatography a*, 985 (2003), S. 221–232(1).
- [14] RODRÍGUEZ-OLVERA, M. G. ; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, L. I. ; QIAN, M. C. ; QIAN, Y. P. ; VAZQUEZ-LANDEVERDE, P. A.: *Implementation of Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) for the Analysis of Volatile Compounds in Tequila*. In B. Guthrie, J. D. Beauchamp, A. Büttner, S. Toth, & M. C. Qian (Hrsg.), *ACS Symposium Series: Vol. 1321. Sex, smoke, and spirits: The role of chemistry*, American Chemical Society, 2019, S. 311–324
- [15] Mac Namara, K., McGuigan, F., & Hoffmann, A., *Aromaprofilierung von Whiskey: Auf den Geschmack gekommen* Nr. 44. *Gerstel Aktuell*, (2011) S. 12–14.
- [16] Nie, Y., & Kleine-Benne, E, *Gerstel AppNote 2/2012 and Stir Bar Sorptive Extraction: Determining Phenolic Compounds in Whisky using Direct Large Volume Injection*, (2012), S. 1–12.
- [17] STUPAK, M. ; GOODALL, I. ; TOMANIOVA, M. ; PULKRABOVA, J. ; HAJŠLOVA, J.: *A novel approach to assess the quality and authenticity of Scotch Whisky based on gas chromatography coupled to high resolution mass spectrometry. Analytica Chimica Acta*, 1042 (2018), S. 60–70.
- [18] CAMPO, E. ; CACHO, J. ; FERREIRA, V.: *Solid phase extraction, multidimensional gas chromatography mass spectrometry determination of four novel aroma powerful ethyl esters. Assessment of their occurrence and importance in wine and other alcoholic beverages. Journal of Chromatography a*, 1140 (2007), S. 180–188(1-2).
- [19] CAMPILLO, N. ; PEÑALVER, R. ; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M.: *Solid-phase microextraction for the determination of haloanisoles in wines and other alcoholic beverages using gas chromatography and atomic emission detection. Journal of Chromatography a*, 1210 (2008), S. 222–228(2).
- [20] WANIKAWA, A. ; HOSOI, K. ; TAKISE, I. ; KATO, T.: *Detection of gamma-Lactones in Malt Whisky. Journal of the Institute of Brewing*, 106 (2000) S. 39–43.
- [21] BOOTHROYD, E. ; LINFORTH, R. S. ; JACK, F. ; COOK, D. J.: *Origins of the perceived nutty character of new-make malt whisky spirit. Journal of the Institute of Brewing*, 120 (2014), S. 16–22(1).
- [22] Nie, Y., & Kleine-Benne, E, *Gerstel App Note 3/2011: Using Three Types of Twister Phases for Stir Bar Sorptive Extraction of Whisky, Wine and Fruit Juice*, (2011)
- [23] CALDEIRA, M. ; RODRIGUES, F. ; PERESTRELO, R. ; MARQUES, J. C. ; CÂMARA, J. S.: *Comparison of two extraction methods for evaluation of volatile constituents patterns in commercial whiskeys Elucidation of the main odour-active compounds. Talanta*, 74 (2007), S. 78–90(1).
- [24] FITZGERALD, G. ; JAMES, K. J. ; MACNAMARA, K. ; STACK, M. A.: *Characterisation of whiskeys using solid-phase microextraction with gas chromatography–mass spectrometry. Journal of Chromatography a*, 896 (2000), S. 351–359(1).
- [25] LEE, K.-Y. M. ; PATERSON, A. ; BIRKMYRE, L. ; PIGGOT, J. R.: *Headspace Congeners of Blended Scotch Whiskies of Different Product Categories from SPME Analysis. Journal of the Institute of Brewing*, 107 (2001)(5), S. 315–332.
- [26] LEE, K.-Y. M. ; PATERSON, A. ; PIGGOT, J. R.: *Origins of Flavour in Whiskies and a Revised Flavour Wheel: A Review. Journal of the Institute of Brewing*, 107 (2001)(5), S. 287–313.
- [27] MALL, V. ; SCHIEBERLE, P.: *Decoding the Unique Peaty Aroma of Islay Scotch Single Malt Whisky by Means of the Sensomics Concept*. In B. Siegmund & E. Leitner (Hrsg.), *Flavour Sci.* Verlag der Technischen Universität Graz, 2018 S. 83–86
- [28] PRYDE, J. ; CONNOR, J. ; JACK, F.; . . . ; WOODS, J.: *Sensory and Chemical Analysis of 'Shackleton's' Mackinlay Scotch Whisky. Journal of the Institute of Brewing*, 117 (2011)(2), S. 156–165.
- [29] WILLIAMS, A. A. ; TUCKNOTT, O. G.: *The volatile components of Scotch whisky. Journal of the Science of Food and Agriculture*, 23 (1972), S. 1–7(1).
- [30] BILLER, J. E. ; BIEMANN, K.: *Reconstructed Mass Spectra, A Novel Approach for the Utilization of Gas Chromatograph–Mass Spectrometer Data. Analytical Letters*, 7 (1974), S. 515–528(7).
- [31] O'CALLAGHAN, S. ; SOUZA, D. P. de ; ISAAC, A.; . . . ; LIKIĆ, V. A.: *Pyms: A Python toolkit for processing of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) data. Application and comparative study of selected tools. BMC Bioinformatics*, 13 (2012), S. 115(1).
- [32] VIRTANEN, P. ; GOMMERS, R. ; OLIPHANT, T. E.; . . . ; VAN MULBREGT, P.: *Scipy 1.0: Fundamental algorithms for scientific computing in Python. Nature Methods*, 17 (2020), S. 261–272(3).
- [33] STEIN, S. E. ; SCOTT, D. R.: *Optimization and testing of mass spectral library search algorithms for compound identification. Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 5 (1994), S. 859–866(9).
- [34] YEN, C.-Y. ; HOUEL, S. ; AHN, N. G. ; OLD, W. M.: *Spectrum-to-spectrum searching using a proteome-wide spectral library. Molecular & Cellular Proteomics : MCP*, 10 (2011), M111.007666(7).
- [35] MALLARD, W. G. ; REED, J ; D'ARCY, P.: *AMDIS User Guide: Automated Mass Spectral Deconvolution & Identification System*. NIST, (2004)

Danksagung

Wir bedanken uns beim Bayerischen Staatsministerium für Wirtschaft, Landesentwicklung und Energie für die Förderung im Rahmen des Projekts „Campus der Sinne“.