

**Hochschule Aalen**

Hochschule für Technik und Wirtschaft

Fakultät Chemie

**Bayerisches Landesamt**

**für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit**

**Dienststelle Würzburg**

Diplomarbeit

***Differenzierung mit Eichenholz aromatisierter Weine  
mittels multivariater Datenanalyse des Aromaprofils***

vorgelegt von

**Jürgen Eißner**

## **Erklärung**

Hiermit versichere ich die vorliegende Diplomarbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt zu haben.

---

Wittelshofen, März 2006

In vino veritas

Platon (427 -347 v. Chr.)

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von August 2005 bis Februar 2006 unter der Betreuung von Prof. Dr. Dirk Flottmann an der Hochschule Aalen, Fakultät Chemie.

Die Betreuung vor Ort erfolgte durch Herrn Dr. Norbert Christoph am Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, Dienststelle Würzburg, an dem auch die praktischen Arbeiten durchgeführt wurden.

## **Danksagung**

Mein Dank gilt dem Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und der Arbeitsmaterialien. Ich möchte mich besonders bei Herrn Dr. Christoph für die interessante Themenstellung und die gute Betreuung mit umfangreichen Anregungen und Diskussionen bedanken. Mein Dank gilt auch Herrn Dipl. Ing. (FH) Harth, Herrn CTA Rakow und Frau Lebensmittelchemikerin Arold für die Einarbeitung in die Analytik sowie die umfangreiche technische Unterstützung während des gesamten Zeitraumes, nicht zuletzt allen Mitarbeitern der Dienststelle Würzburg für die freundliche Aufnahme und Unterstützung. Besonders bedanken möchte ich mich bei Herrn Dr. Wachter für die Beratung im Rahmen der statistischen Datenauswertung.

Mein Dank gilt weiterhin Herrn Dr. Binder und Herrn Dr. Schmarr von der Abteilung Weinbau und Önologie des Dienstleistungszentrums Ländlicher Raum (DLR) Rheinpfalz, Neustadt an der Weinstraße sowie Herrn Schlosser und Herrn Ungerer von der Firma J. Rettenmaier & Söhne GmbH&CO.KG (73494 Rosenberg) für das Bereitstellen der in dieser Arbeit verwendeten Holzchips sowie von Vergleichssubstanzen. Darüber hinaus bedanke ich mich auch bei der Bayerischen Landesanstalt für Weinbau und Gartenbau, Veitshöchheim, insbesondere bei Herrn Köhler für die Durchführung von kellerwirtschaftlichen Versuchen und die Bereitstellung von Probenmaterial.

Ich bedanke mich schließlich vor allem bei Herrn Prof. Dr. Dirk Flottmann für die Ermöglichung und Betreuung dieser Diplomarbeit.

Des Weiteren danke ich meiner Familie für die Unterstützung während des gesamten Studiums.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>2. THEORETISCHE GRUNDLAGEN.....</b>	<b>4</b>
2.1 HOLZ ALS ROHSTOFF ZUR LAGERUNG UND AROMATISIERUNG VON WEIN .....	4
2.1.1 Technologische Aspekte der Herstellung und des Einsatzes von Holz- und Barriquefass ...	4
2.1.2 Technologische Aspekte der Herstellung und des Einsatzes von Chips .....	6
2.1.3 Bildung von Aromastoffen beim Toasten von Eichenholz .....	6
2.2 FESTPHASENEXTRAKTION .....	7
2.3 GC-MS-KOPPLUNG .....	10
2.3.1 Elektronenstoßionisation .....	11
2.3.2 Ioneneinfangdetektor.....	12
2.4 MULTIVARIATE DATENANALYSE .....	13
2.4.1 Methoden im Überblick.....	13
2.4.2 Design von Experimenten – Varianzanalyse .....	15
2.4.3 Hauptkomponentenanalyse .....	18
2.4.4 SIMCA: Ein Verfahren zur Klassifizierung von Objekten.....	24
<b>3. UNTERSUCHUNGSMATERIALIEN .....</b>	<b>28</b>
3.1 HOLZPROBEN .....	28
3.2 WEINE .....	28
<b>4. METHODENENTWICKLUNG.....</b>	<b>29</b>
4.1 REAGENZIEN UND REFERENZSUBSTANZEN .....	29
4.2 ANALYSENSYSTEME .....	30
4.3 CHROMATOGRAPHISCHE BEDINGUNGEN.....	30
4.4 IDENTIFIZIERUNG DER AROMASTOFFE IN EINEM CHIPSKONZENTRAT .....	31
4.5 FESTPHASENAUSWAHL .....	35
4.6 KALIBRIERUNG, NACHWEIS- UND BESTIMMUNGSGRENZE .....	36
4.7 WIEDERHOLBARKEIT .....	38
4.8 WIEDERFINDUNG .....	38
<b>5. ERGEBNISSE UND DISKUSSION.....</b>	<b>40</b>
5.1 EINFLUSS VON TOASTUNG, CHIPSGRÖÙE UND KONTAKTZEIT AUF DAS AROMAPROFIL .....	40
5.2 EINFLUSS DES ZUGABEZITPUNKTS – VOR BZW. NACH DER GÄRUNG .....	57
5.3 PRAXISVERSUCHE AN DER LWG VEITSHÖCHHEIM .....	58
5.4 AMERIKANISCHE UND FRANZÖSISCHE CHIPS .....	61
5.5 BARRIQUEWEINEN.....	63
5.6 HAUPTKOMPONENTENANALYSE DER CHIPS- UND BARRIQUEWEINE .....	65
5.7 DIFFERENZIERUNG ÖNOLOGISCHER VERFAHREN – SIMCA.....	68
<b>6. ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK .....</b>	<b>73</b>

<b>7. LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>75</b>
<b>8. TABELLEN-, ABBILDUNGS- UND ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>78</b>
8.1 TABELLENVERZEICHNIS .....	78
8.2 ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	79
<b>9. ANHANG .....</b>	<b>81</b>
9.1 KONZENTRATIONEN DER UNTERSUCHTEN PROBEN .....	81
9.2 DATEN ZU PCA UND SIMCA.....	84

# 1. Einleitung und Problemstellung

Die Verwendung von Holz als Fassmaterial zur Lagerung von Wein und Spirituosen hat eine jahrhundertealte Tradition [Schmidt 2003]. Das klassische Holzfass eignet sich nicht nur zur Lagerung, sondern auch zum Ausbau von Weinen und Spirituosen. Seit vielen Jahren werden vor allem hochwertige Weine – meist Rotweine – in so genannten Barriquefässern ausgebaut. Im Gegensatz zu Holzfässern ist das Barriquefass nicht ausgelaugt und die Größe ist auf maximal 350 Liter begrenzt. Bei Kontakt des Weines mit diesen „neuen“ Holzfässern wird eine Vielzahl von Stoffen aus dem Holz extrahiert, so dass die Weine eine Abrundung oder Verstärkung ihres Aromas erfahren [Schneider 2005].

Beim Ausbau eines Weines im Holz- oder Barriquefass handelt es sich somit im Prinzip um eine Aromatisierung, welche auch als einziges Verfahren in den einschlägigen Gesetzen und Verordnungen des Weinrechts sowie vom Internationalen Amt für Rebe und Wein (OIV) genehmigt ist, um die Weinaromatik zu verändern bzw. zu beeinflussen [Sigler 2005]. In der Europäischen Union (EU) ist das einzige zulässige Verfahren dieses Kontaktes der Ausbau von Wein in Holz- oder Barriquefässern.

Nach den Vorschriften im § 32 Abs. 8 der Weinverordnung muss bei der Kennzeichnung „*Im Barrique gereift*“ der Wein bzw. ein Teil des Weines oder der zu seiner Herstellung verwendeten Erzeugnisse in einem Barriquefass mit maximal 350 Litern Fassungsvermögen gelagert werden; der Wein muss bei der Zuteilung der Prüfnummer *die für die Reifung im Barriquefass typischen sensorischen Merkmale* aufweisen. Bei der Kennzeichnung „*Im Holzfass gereift*“ müssen mindestens 75% des Weines, bei Rotwein mindestens 6 Monate, bei Weißwein mindestens 4 Monate, in einem Holzfass gelagert werden.

Das Verfahren der Aromatisierung von Wein mit getoasteten Eichenholzschnitzeln (Chips) ist in der abschließenden Positivliste der önologischen Verfahren der gemeinsamen Marktorganisation für Wein nicht enthalten und somit verboten bzw. nur zu Versuchszwecken zugelassen, in Ländern wie USA, Australien jedoch erlaubt. Da hierdurch ein Wettbewerbsnachteil gegenüber eingeführten Weinen besteht, wird langfristig auch eine Zulassung dieser Behandlung innerhalb der EU nicht aufzuhalten sein. Durch das Inkrafttreten eines bilateralen Abkommens zwischen den USA und der EU, das den Import von US-amerikanischen Weinen gestattet, die mit Hilfe von Holzchips hergestellt wurden, und zu dem dieses Verfahren anerkennt, wird eine Zulassung dieses Verfahrens auch in der EU noch wahrscheinlicher.

Bei einer Zulassung von Holzchips in der EU wäre ein Nachweisverfahren zur Unterscheidung von Chipsbehandlung und Barrique- bzw. Holzfasslagerung von großer Bedeutung, da der wirtschaftliche Vorteil eines Chipseinsatzes sehr groß ist. Bei einem

Kaufpreis von ca. 600 € für ein 225-Liter Barriquefass entstehen bei dreimaliger Belegung für 12 Monate Kosten von ca. 0,9 € /Liter Wein, die somit fast zwanzigmal höher sind als bei der Verwendung von Eichenchips (Kosten ca. 7,5 € /kg, entsprechend 0,05 €/ Liter Wein). Bei einer Zulassung von Chips könnte daher die Gefahr bestehen, dass eine Holz- bzw. Barriquefasslagerung durch Einsatz von Holzchips vorgetäuscht werden könnte. Bislang wird es in Fachkreisen für unwahrscheinlich gehalten, eine Aromatisierung mit Holzchips auf analytischem Wege sicher nachzuweisen bzw. von einer Barriquefasslagerung zu unterscheiden.

Die Behandlung von Traubenmost oder Wein mit Chips führt wie beim Weinausbau im Holz- und Barriquefass zu einer spezifischen Veränderung der Aromastruktur. Sowohl durch die Lagerung im Barriquefass als auch bei der Behandlung mit Chips gelangen dieselben flüchtigen genuinen Aromastoffe aus dem Holz bzw. dem getoasteten Holz in den Wein. Es ist somit davon auszugehen, dass weder über die qualitative Zusammensetzung der Holzaromastoffe (Aromastoffprofil) noch über deren absoluten Gehalte eine Aussage hinsichtlich einer Differenzierung von Barrique und Chips möglich ist, da die Konzentrationen von der Herkunft des Holzes, dem Toastungsgrad sowie der Lagerungsdauer abhängen. Es ist somit zu erwarten, dass große natürliche Varianzen sowohl in Barriqueweinen als auch in den mit Chips behandelten Weinen vorliegen; zu berücksichtigen sind außerdem noch Veränderungen während der Lagerung des Weines im Barriquefass bzw. nach der Holzbehandlung, unter anderem durch Verflüchtigung sowie chemische oder mikrobiologisch bedingte Umlagerungen bestimmter Aromastoffe. Andererseits ist davon auszugehen, dass einzelne Komponenten aus dem Holz infolge der zeitlich sehr unterschiedlichen Einwirkungsdauer bei Barrique und Chips und der damit verbundenen unterschiedlichen Migration bzw. Löslichkeit der Komponenten im Wein zu Möglichkeiten einer Differenzierung führen könnten.



Die Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit wurden unter anderem auf die Arbeiten von López [López 2004] aufgebaut, der bereits eine Methode zur Bestimmung flüchtiger Weinhaltstoffe entwickelt hatte. Zudem wurden von Ferreira [Ferreira 2004] Untersuchungen zur Festphasenextraktion von Weinen durchgeführt. Jarauta [Jarauta 2005] untersuchte den Einfluss der Holzart und der Lagerdauer auf die Konzentration verschiedener Aromastoffe während der Lagerung in Barriquefässern.

In diesem Sinne wurden in dieser Arbeit folgende Ziele gesetzt:

- Massenspektrometrische Identifizierung der Hauptaromastoffe, die von getoasteten Eichenholzchips einer bestimmten Holzart in den Wein übergehen
- Erarbeitung einer Methode zur Anreicherung der Aromastoffe aus Holz über Festphasenextraktion und zur quantitativen Bestimmung der Aromastoffe
- Zeitkorrelierte Migrationsversuche mit Ansätzen von Chips verschiedener Toastungsgrade in Wein für einen Zeitraum von 3 bis 42 Tagen
- Untersuchung des Einflusses des Zugabezeitpunkts (vor und nach der Vergärung)
- Qualitative und quantitative Bestandsaufnahme der relevanten Aromastoffe in Barriqueweinen des Handels
- Einsatz statistischer Verfahren zur Differenzierung von Chips- und Barriqueweinen

## 2. Theoretische Grundlagen

### 2.1 Holz als Rohstoff zur Lagerung und Aromatisierung von Wein

Holz besteht unabhängig von der Holzart aus folgenden Hauptkomponenten:

Cellulose (ca. 50%), Lignin (bis zu 14% bei Laubbäumen; bis zu 20% bei Nadelbäumen) und Hemicellulosen (bis zu 30%). In geringerer Menge sind auch Verbindungen wie Phenole, Terpene, Lactone, Harze und Mineralstoffe nachzuweisen [Maurer 1989 II]. Die Eignung des Holzes zur Herstellung von Holz- bzw. Barriquefässern ist von mehreren Faktoren abhängig. So spielen Holzart, Klima und Bodenbeschaffenheit eine entscheidende Rolle. Am besten eignet sich langsam gewachsenes Holz, da dieses eine sehr feine Struktur und ein hohes Aromapotential besitzt. Im Laufe der Zeit setzte sich auf Grund physikalisch-chemischer und anatomischer Eigenschaften vor allem Eiche als Baumaterial für Holzfässer durch [Maurer 1989], [Stryer 1996].

#### 2.1.1 Technologische Aspekte der Herstellung und des Einsatzes von Holz- und Barriquefass

Die wichtigsten Aspekte der Herstellung von Holz- bzw. Barriquefässern lassen sich folgendermaßen zusammenfassen: Nach dem Spalten oder Zersägen des Stammes wird das Holz zwei bis vier Jahre luftgetrocknet. Ein entscheidender Arbeitsgang beim Zusammenfügen des Fasses ist das Ausbrennen. Hierzu werden die Dauben kreisförmig zusammengestellt und am unteren Ende mit Eisenringen befestigt. Dann wird in der Mitte des Fasses ein Feuer entfacht (Abbildung 1) und das Daubenäußere wird mit Wasser bestrichen.



Abbildung 1: Behälter zum Toasten von Holzfässern

So werden die Dauben biegsam und das Fass kann zusammengefügt werden.

Diese Befeuerung im Fassinneren bringt es mit sich, dass das Holz stark erhitzt wird – bis zu 200°C und mehr – und zum Teil leicht verkohlt (Abbildung 2).



Abbildung 2: Getoastetes Holzfass von innen

Während für Barriquefässer (Abbildung 3) ein maximales Volumen von 350 Litern vorgeschrieben ist, gibt es beim klassischen Holzfass keine Volumenbeschränkung.



Abbildung 3: links Barriquefässer; rechts klassische Holzfässer

## 2.1.2 Technologische Aspekte der Herstellung und des Einsatzes von Chips

Das Holz, das für die Herstellung von Eichenholzchips verwendet wird, ist das gleiche, das auch zur Herstellung von Holz- oder Barriquefässern Verwendung findet. Häufig wird hier auch Abfallholz, das bei der Fassherstellung anfällt, benutzt.

Zur Zerkleinerung wird das Holz geraspelt und dann entsprechend der Größe sortiert. Das Toasten der Chips erfolgt bei Temperaturen von 150-250°C in einer Apparatur ähnlich einem Kaffeeröster. Die Toastzeit beträgt je nach Temperatur und gewünschter Toastungsstufe zwischen 20 und 40 Minuten [Bauer 2003]. In Abbildung 4 sind zwei Sorten der verwendeten Chips gezeigt.



Abbildung 4: Eichenholzchips (links: klein medium toasted; rechts: groß heavy toasted)

Die Zugabe der Eichenholzchips zum Wein kann in verschiedenen Stadien der Weinbereitung erfolgen. Bei Weißwein gibt man die Chips oft schon zur Vergärung des Traubenmostes hinzu, während bei Rotwein die Chips meist erst nach Beendigung des biologischen Säureabbaus zugegeben werden.

Die Dosierung beträgt je nach gewünschter Intensität der Aromen zwischen 1 und 10 g/l Wein. Es ist auch möglich mit einer höheren Dosierung ein Konzentrat zu erzeugen und dieses dann zum unbehandelten Wein zu geben bis die gewünschte Intensität erreicht ist.

Ebenso hängt die Einwirkzeit von der gewünschten Intensität und dem Grad der Toastung der Chips ab, so dass typischerweise eine Einwirkzeit von 2 bis 30 Tage ausreicht, nur selten wählt man Kontaktzeiten von mehreren Monaten.

## 2.1.3 Bildung von Aromastoffen beim Toasten von Eichenholz

Durch die starke Hitzeentwicklung beim Ausbrennen der Fässer bzw. beim Toasten der Eichenholzchips wird das Holz aufgeschlossen und es bilden sich aromatisch wirksame Substanzen. In der folgenden Übersicht sind einige der wichtigsten Aromastoffe von

getoastetem Eichenholz, ihre Bildung und sensorischen Eigenschaften zusammengefasst [Arapitsas 2004].

- Furfural: Es entsteht durch Hitzeeinwirkung auf Monosaccharide, die durch teilweise Hydrolyse der Hemicellulose gebildet werden; hat den Charakter getrockneter Früchte und gebrannter Mandeln
- Guaiacol: Es entsteht durch den Zusammenbruch des Ligninsystems beim Erhitzen; verursacht einen rauchigen, süßlichen Ton
- Whiskylacton: Es entsteht aus Eichenlipiden; hat einen eichen- und kokosnussartigen Charakter
- Eugenol: Es entsteht durch den Zusammenbruch des Ligninsystems beim Erhitzen; hat den Charakter von Nelke, Honig, Rauch
- Vanillin: Es entsteht aus Lignin; vanilleartiger Ton
- Syringaldehyd: Es entsteht durch den Zusammenbruch des Ligninsystems beim Erhitzen; verursacht einen vanilleartigen Ton

## **2.2 Festphasenextraktion**

Die meisten Aromastoffe, die das Bukett eines Weines ausmachen, und auch holzbürtige Aromastoffe sind nur in sehr geringer Konzentration im Wein vorhanden. Dies führt dazu, dass eine direkte Messung bei den meisten Messgeräten nicht mit ausreichender Empfindlichkeit möglich ist. Es ist also eine Anreicherung nötig, die auf zwei Arten erfolgen kann. Die zeitaufwändigere Methode der Flüssig-Flüssig-Extraktion und die schnellere, heute für bestimmte analytische Aufgabenstellungen bevorzugte Methode der Festphasenextraktion (SPE – Solid Phase Extraction). Die SPE bietet zudem den Vorteil, dass sie wesentlich weniger Lösungsmittel verbraucht, leicht automatisierbar ist und dadurch weniger Zeit in Anspruch nimmt [LaborPraxis 2005].

Das Grundprinzip der SPE ist die Chromatographie. Es stehen heute eine Vielzahl von Festphasenmaterialien, so genannte Sorbentien, zur Verfügung [LaborPraxis 2005]. Diese unterscheiden sich vor allem hinsichtlich ihrer Polarität, so dass eine gezielte Anreicherung bestimmter Substanzen möglich ist. Für die Adsorption der Substanzen am Sorbens, auf der die Anreicherung beruht, spielen im Wesentlichen polare, unpolare, ionische und nicht-ionische Wechselwirkungen eine Rolle [LaborPraxis 2003]. Im Vergleich dazu spielt bei der Flüssig-Flüssig-Extraktion das Verteilungsgleichgewicht die entscheidende Rolle. Neben der Anreicherung von Substanzen kann die SPE auch dafür eingesetzt werden, um bestimmte Komponenten aus der Probenmatrix zu entfernen [LaborPraxis 2005].

Diese beiden Anwendungsmöglichkeiten der Festphasenextraktion erfordern zwei verschiedene Vorgehensweisen. Zum einen ist eine Aufkonzentrierung und Anreicherung des Analyten möglich, indem das Sorbens so gewählt wird, dass der Analyt an diesem

adsorbiert und anschließend wieder eluiert wird. Zum anderen ist die Entfernung der Matrix möglich, indem man das Sorbens so wählt, dass die Matrix retardiert wird und der Analyt ungehindert durch die Kartusche läuft. Diese Möglichkeiten sind in den Abbildungen 5 und 6 graphisch dargestellt.

Hierzu wird das Sorbens zunächst konditioniert. Im Anschluss daran erfolgt die Probenaufgabe. Nun wird das Sorbens gewaschen; dieser Waschschritt kann je nach analytischer Fragestellung auch übersprungen werden. Schließlich erfolgt die Elution des Analyten.

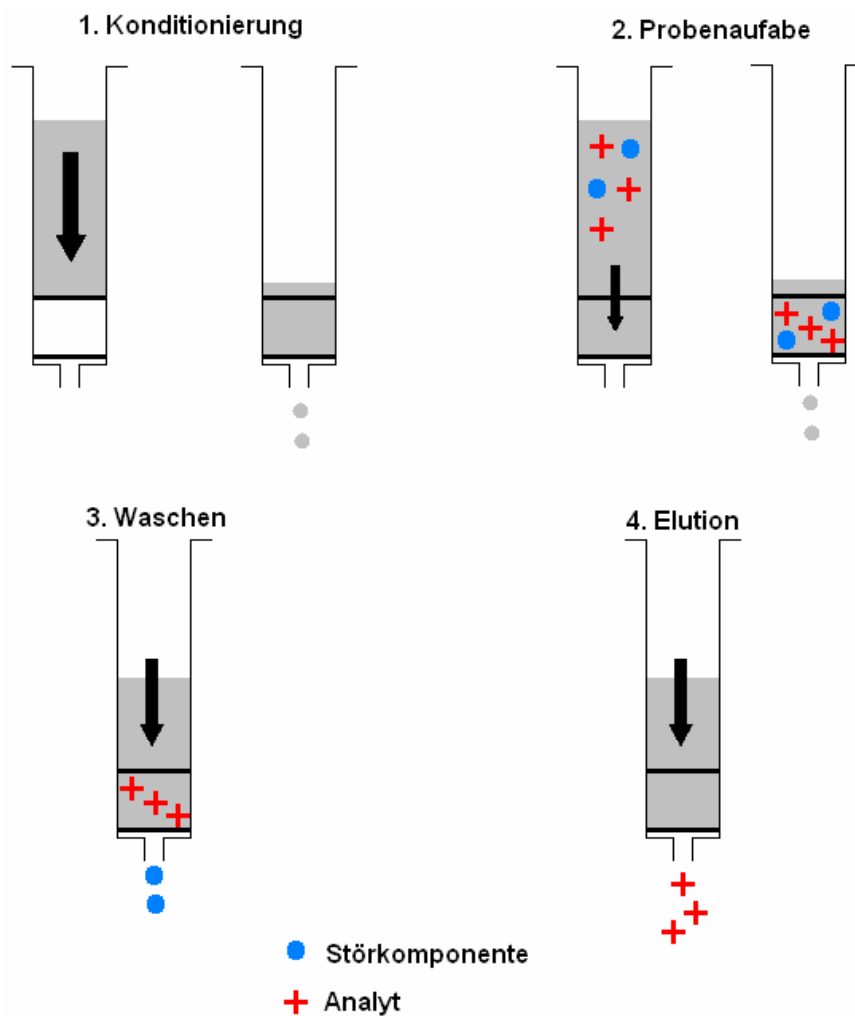


Abbildung 5: Anreicherung des Analyten mittels SPE

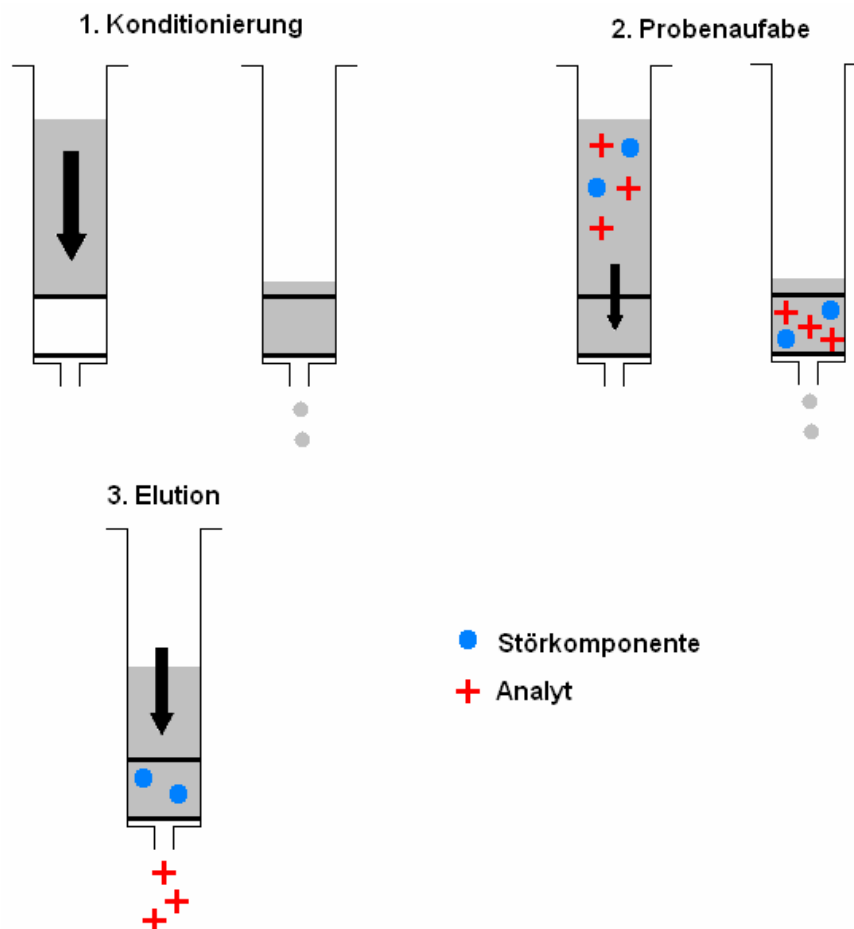


Abbildung 6: Entfernung der Matrix mittels SPE

Als Vorbereitung auf die Extraktion wird das Sorbens konditioniert. Das hierzu verwendete Lösungsmittel hängt vom verwendeten Festphasenmaterial ab. Bei der Konditionierung werden zum einen die an der Oberfläche des Trägermaterials chemisch gebundenen funktionellen Gruppen aufgerichtet, so dass sich die zur Adsorption zur Verfügung stehende Oberfläche vergrößert, und zum anderen wird das Sorbens mit Lösungsmittel benetzt, um die in der Probelösung vorhandenen Analyte adsorbieren zu können. Die Konditionierung kann mit verschiedenen Lösungsmitteln und in mehreren Schritten erfolgen. Dabei ist darauf zu achten, dass die Mischbarkeit aufeinander folgender Lösungsmittel gewährleistet ist, damit das Auswaschen des zuerst aufgegebenen Lösungsmittels sichergestellt werden kann. Der Abschluss dieser Konditionierung erfolgt immer mit dem Probelösungsmittel. Diese so genannte Equilibrierung ist notwendig, um das Festphasenmaterial von Lösungsmitteln zu befreien, die einen negativen Einfluss auf die Adsorption haben können.

Direkt nach der Konditionierung wird die Probe aufgegeben. Um einen konstanten Fluss durch die Kartusche zu gewährleisten – hiervon hängt die Reproduzierbarkeit entscheidend ab – wird ein Überdruck vor der Kartusche bzw. ein Unterdruck nach der Kartusche angelegt.

Es ist besonders darauf zu achten, dass die Kartuschen zwischen den einzelnen Schritten nicht trocken laufen. Dies hätte zur Folge, dass sich im Festphasenmaterial Kanäle bilden können, die ein schnelles Durchfließen der Analyte ermöglichen. Durch die so verkürzte Aufenthaltsdauer wird die Anreicherung verschlechtert und die Reproduzierbarkeit verringert. Bei der Elution ist darauf zu achten, dass Probelösungsmittel und Elutionsmittel mischbar sind. Ist dies nicht gegeben – zum Beispiel bei Wasser und Dichlormethan – so wird zwischen Probenaufgabe und Elution ein Trockenschritt geschaltet. Hierzu wird Luft oder auch Stickstoff durch die Kartuschen gesaugt, um das Probelösungsmittel zu verdampfen.

### **2.3 GC-MS-Kopplung**

Da die Aromastoffe, die aus dem getoasteten Holz in den Wein übergehen, flüchtig sind, ist die Gaschromatographie ein geeignetes Verfahren zur Analyse.

Die Gaschromatographie ist eine der bedeutendsten Methoden zum Trennen und zur Quantifizierung flüchtiger Stoffgemische [Schwedt 2004]. Eine selektive Trennung und Detektion der Einzelkomponenten eines solchen Gemisches ist für die Identifizierung der Komponenten besonders wichtig. Die heute weit verbreitete Kopplung von Gaschromatographen (GC) mit Massenspektrometern (MS) (Abbildung 7) ist eine der wichtigsten Werkzeuge, die zur Analyse komplexer organischer und biochemischer Mischungen zur Verfügung stehen [Skoog 1996]. Diese Kopplung ermöglicht es Massenspektren der einzelnen Substanzen direkt nach dem Trennen durch den Gaschromatographen aufzunehmen.

Dabei werden die einzelnen Substanzen nach der Trennung im GC über eine so genannte Transfer-Line in das MS gebracht. Dort wird jede einzelne Substanz mit Hilfe von Elektronenstößen oder auch chemisch ionisiert. Durch den Einsatz von elektromagnetischen Feldern werden die ionisierten Moleküle und Molekülfragmente schließlich in den Massenanalysator geleitet und detektiert. Die erhaltenen Massenspektren werden mit einer systemeigenen Bibliothek von Massenspektren verglichen. Aber erst über die Retentionszeiten und Massenspektren von Vergleichssubstanzen ist eine weitgehend gesicherte Identifizierung und spätere Quantifizierung möglich.



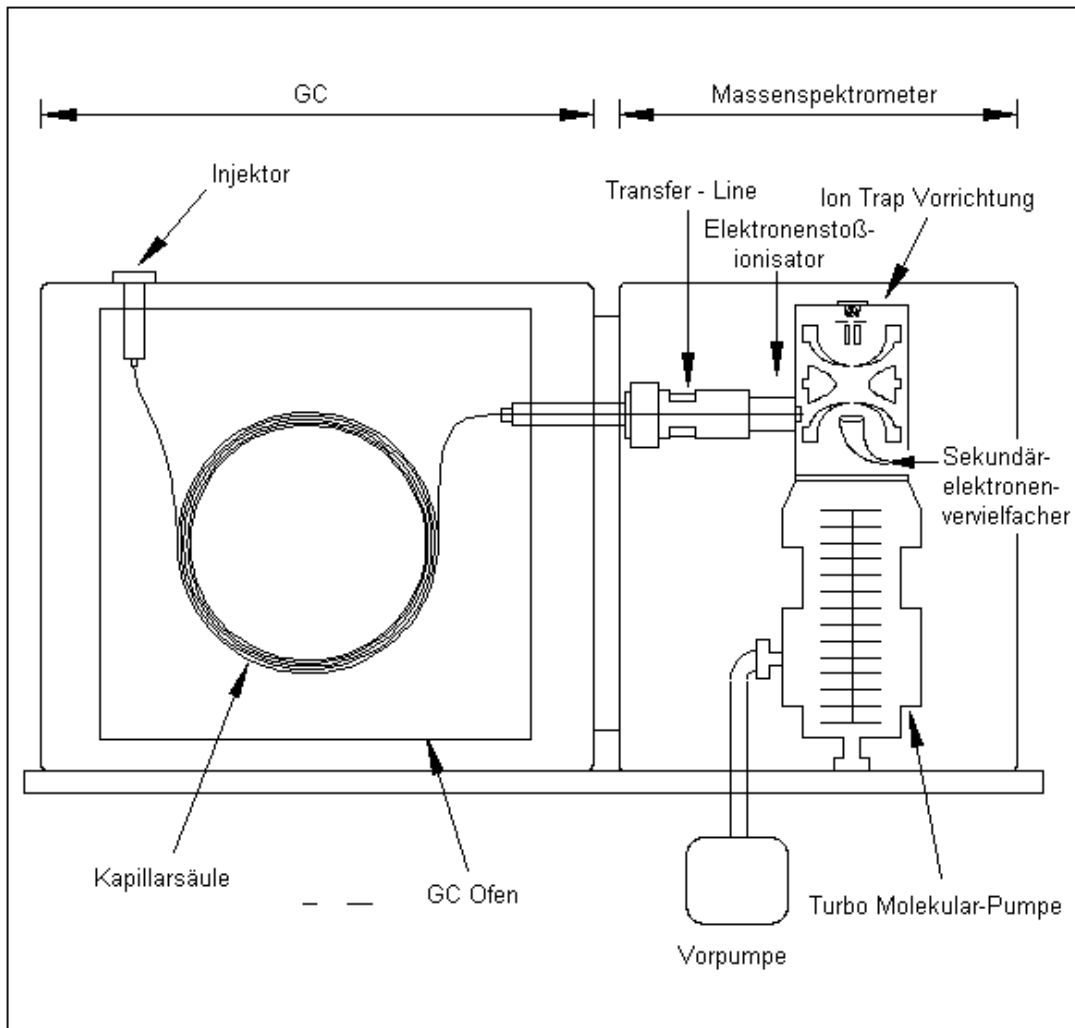


Abbildung 7: Schematische Darstellung einer GC-MS-Kopplung mit Ioneneinfangdetektor (aus [www.ivv.fhg.de](http://www.ivv.fhg.de))

### 2.3.1 Elektronenstoßionisation

Um die einzelnen Aromastoffe zu identifizieren, muss eine Fragmentierung der Probemoleküle erfolgen. Bei der Elektronenstoßionisation treffen die Probemoleküle in der Ionisationseinrichtung auf einen Strahl energiereicher, beschleunigter Elektronen (siehe Abbildung 8). Dabei verlieren die Probenmoleküle ein Elektron, so dass ein positiv geladenes Molekülion, ein Radikalkation, entsteht. Aufgrund ihrer geringen Masse verursachen die energiereichen Elektronen bei ihren Stoßpartnern – den Probemolekülen – kaum einen Zuwachs an Translationsenergie. Vielmehr werden die Stoßpartner dabei in hoch angeregte Schwingungs- und Rotationszustände versetzt. Die anschließende Relaxation findet meist über eine ausgeprägte Fragmentierung statt. Dies hat zur Folge, dass eine große Anzahl positiv geladener Ionen mit verschiedenen Massen entsteht [De Hofmann 2002].

Diese stark ausgeprägte Fragmentierung ist ein großer Vorteil der Elektronenstoßionisation, da aufgrund der Bruchstücke eine genaue Identifizierung der Substanz möglich wird.

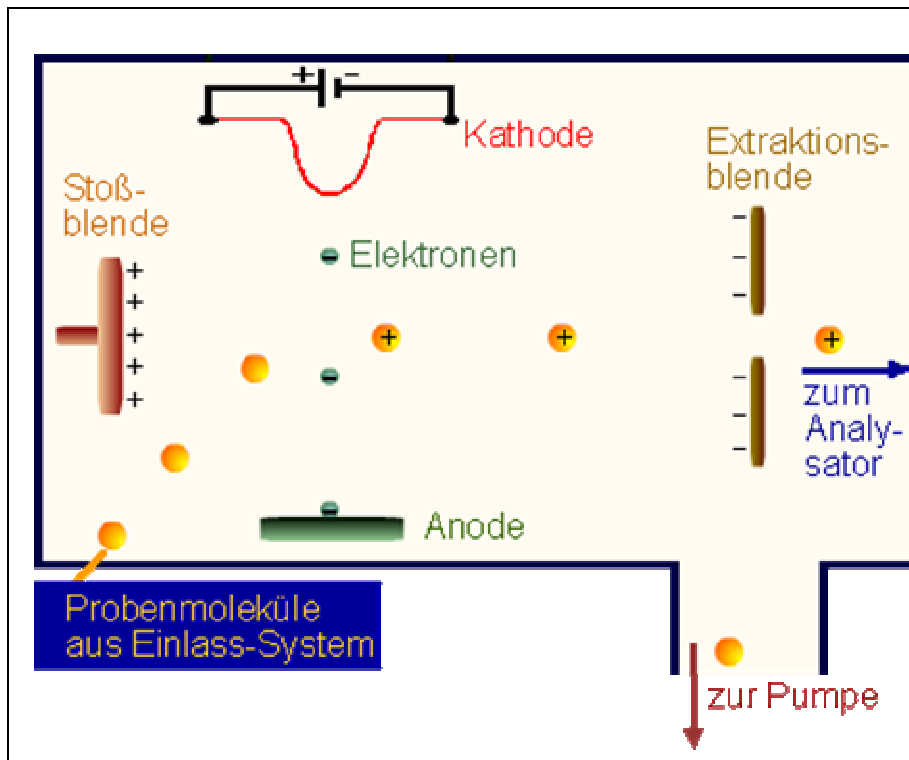


Abbildung 8: Elektronenstoßionisator (aus [www.vs-c.de](http://www.vs-c.de))

### 2.3.2 Ioneneinfangdetektor

Beim Ioneneinfangdetektor handelt es sich um einen Massenspektrometer, der für die Kopplung mit Gaschromatographen entwickelt wurde [Skoog 1996]. Er besteht aus folgenden Teilen (Abbildung 9):

- Elektronenquelle
- Linsensystem
- Abschirmelektroden
- Ringelektrode
- Sekundärelektronenvervielfacher

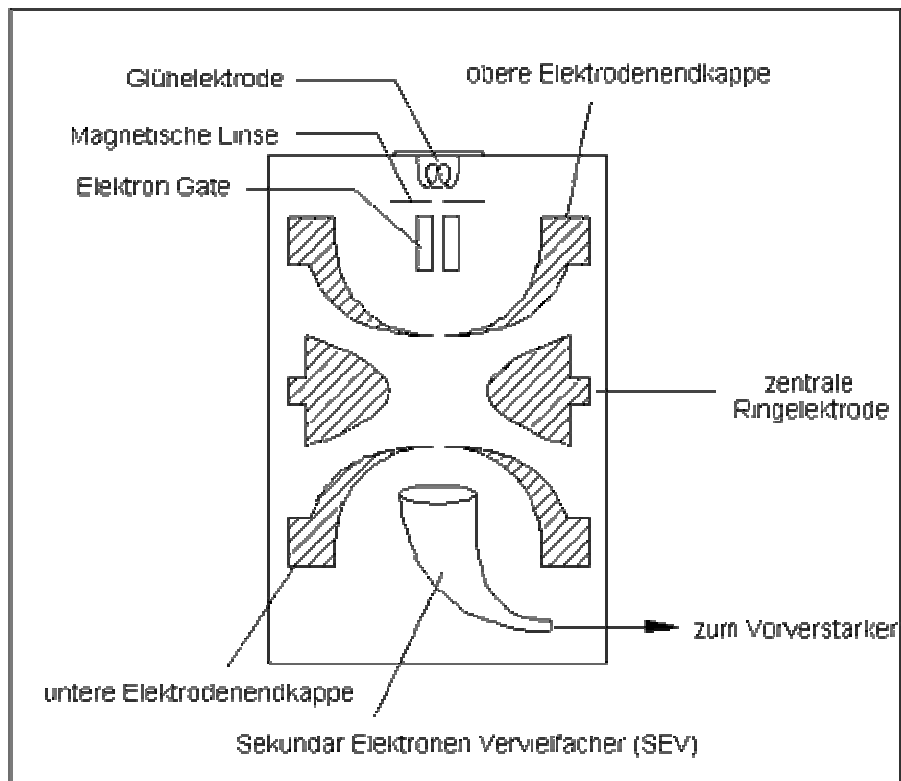


Abbildung 9: Schematischer Aufbau eines Ioneneinfangdetektors (aus [www.ivv.fhg.de](http://www.ivv.fhg.de))

Der Eluentenstrom des Gaschromatographen tritt in die Ionenfalle ein und wird chemisch oder mit Hilfe von Elektronen ionisiert. Die so entstandenen Molekül- und Fragmentionen gelangen über das Linsensystem in das Zentrum des Analysators. Dabei ist an die zentrale Ringelektrode ein variables Hochfrequenzfeld angelegt, das die Ionen auf stabilen Umlaufbahnen hält. Wird nun die Hochfrequenzspannung verändert, werden die Ionen, aufgetrennt nach ihren Masse-zu-Ladungs-Verhältnissen, destabilisiert und gelangen über eine Öffnung in der unteren Abschirmelektrode zum Detektor [Gross 2004].

Der Ioneneinfangdetektor hat gegenüber dem Quadrupol-Massenanalysator den Vorteil, dass er im Scan-Modus, in dem komplette Massenspektren aufgenommen werden, wesentlich empfindlicher ist [Läubli 2004].

## 2.4 Multivariate Datenanalyse

### 2.4.1 Methoden im Überblick

Um gewonnene Daten zu analysieren, bieten sich verschiedene Möglichkeiten an.

Die gängigste und wohl bekannteste Methode ist die **univariate** Datenanalyse. Hier werden die ermittelten Daten bezüglich einer Eigenschaft eines Merkmalsträgers auf verschiedene Größen, wie zum Beispiel Mittelwert, Standardabweichung, Streuung oder Verteilung untersucht. Möglichkeiten der Darstellung einer univariaten Datenanalyse sind das

Histogramm oder der Box-Plot [Danzer 2001]. Es ist hier nicht möglich eine Beziehung zwischen den Eigenschaften des Merkmalsträgers herzustellen.

Bei der **bivariaten Datenanalyse** werden pro Merkmalsträger zwei Eigenschaften erfasst. Diese Eigenschaften können zum einen univariat analysiert werden und zum anderen können über die bivariate Datenanalyse auch Zusammenhänge zwischen diesen beiden Eigenschaften ermittelt werden. Eine gängige Art der Darstellung ist das x,y-Streudiagramm. Um diese Zusammenhänge mathematisch zu erfassen, werden verschiedene Regressionsmodelle verwendet [Handl 2002].

Bei der **multivariaten** Datenanalyse werden schließlich mehr als zwei Eigenschaften eines Merkmalsträgers erfasst. Auch hier ist es möglich zunächst eine univariate Analyse durchzuführen. Aber darüber hinaus liefert die multivariate Datenanalyse Zusammenhänge zwischen zwei oder mehr Eigenschaften des Merkmalsträgers. Da eine Darstellung höherdimensionaler Räume oder Daten nicht möglich ist, bedarf es spezieller mathematischer Vorgehensweisen, um diese Zusammenhänge erkennen zu können [Backhaus 1993].

Die multivariate Datenanalyse lässt sich wiederum in verschiedenen Gruppen einteilen. Es gibt Verfahren, die die gewonnenen Daten beschreiben (**deskriptive Datenanalyse**). Dabei handelt es sich um Methoden, die diese Daten meist uni- bzw. bivariat darstellen.

Des Weiteren sind Verfahren verfügbar, mit denen sich die Daten auf eine vorhandene Struktur überprüfen lassen (**konfirmatorische Datenanalyse**). Hierbei handelt es sich um Modelle, die diese Daten beschreiben, Zusammenhänge darstellen und zudem Vorhersagen ermöglichen [Flury 1983]. Hierunter fallen zum Beispiel die Varianzanalyse, zur Analyse von Experimenten (siehe 2.4.2), die Regressions- und die Korrelationsanalyse, zur Erklärung von Zusammenhängen zwischen abhängigen und unabhängigen Variablen, und die Diskriminanzanalyse, zur Einteilung in Gruppen. Bei diesen zuletzt genannten Verfahren ist Voraussetzung, dass der Anwender eine bestimmte Vorstellung, ein Modell, der Daten besitzt, das heißt er kennt bereits die Gruppen, die er trennen möchte oder er weiß, dass eine bestimmte Variable von einer anderen abhängig ist [Hamburg 1994].

Schließlich gibt es noch Verfahren der multivariaten Datenanalyse, die Strukturen entdecken (**explorative Datenanalyse**). Aus diesen Verfahren lassen sich neue Erkenntnisse, wie zum Beispiel Zusammenhänge zwischen Variablen oder Gruppierungen innerhalb der Daten, gewinnen. Dazu zählen die Clusteranalyse, zur Bündlung von Objekten in Gruppen, die Faktorenanalyse und die Hauptkomponentenanalyse (siehe 2.4.3) [Lucke 2004].

Häufig werden die genannten Verfahren im Zusammenspiel angewendet. So kann beispielsweise die Hauptkomponentenanalyse Gruppierungen von Objekten zeigen, die mittels SIMCA, Soft Independent Modelling of Class Analogy (siehe 2.4.4), näher beschrieben und getrennt werden können [Esbensen 2002].

## 2.4.2 Design von Experimenten – Varianzanalyse

Eine wichtige Voraussetzung, um Schlüsse oder Folgerungen aus Daten ziehen zu können, ist eine sorgfältige Probenauswahl. Hat man einen Satz von sorgfältig ausgewählten Proben, so wird die Chance wichtige Informationen zu erhalten deutlich erhöht. Durch Beeinflussung der Probenauswahl lässt sich diese Chance weiter steigern. Die meiste Information kann man erlangen, wenn man die Proben selbst erstellt, das heißt gezielte Versuche durchführt. Um ein Phänomen, eine Prozessentwicklung oder eine Produktoptimierung zu analysieren, bedarf es meist vieler Experimente, die zeit- und kostenaufwendig sind. Man sollte sich also zum Ziel setzen die Versuchsanzahl gering zu halten und gleichzeitig möglichst viel Information pro Versuch zu bekommen. Hierzu gibt es verschiedene Verfahren.

Klassische Verfahren, um den Einfluss von Faktoren auf eine Zielgröße zu ermitteln, sind das Ad-hoc-Verfahren und das „Eine-Variable-zu-einer-Zeit“-Verfahren. Diese haben allerdings den Nachteil, dass keine Wechselwirkungen von Faktoren ermittelt werden und dass zufällige Schwankungen nicht von echten Effekten unterschieden werden können.

Ein moderneres Verfahren ist das **Design von Experimenten** [Morgan 1995]. Dieses Verfahren beruht auf einer mathematischen Theorie, die es ermöglicht alle potentiellen Ursachen gleichzeitig zu untersuchen und dennoch sichere Rückschlüsse auf alle einzelnen Faktoren ziehen zu können. Zusätzlich wird der Einfluss des experimentellen Fehlers auf das Ergebnis minimiert, da alle Versuchsergebnisse zusammen betrachtet werden und nicht einzeln. Dieses Verfahren bietet also eine Vielzahl von Vorteilen:

- Man weiß vorher genau wie viele Versuche durchzuführen sind
- Es können sowohl Einzeleffekte als auch Wechselwirkungen unabhängig voneinander untersucht werden
- Es sind in einem gewissen Rahmen Vorhersagen möglich
- Über die Signifikanz der beobachteten Effekte lassen sich echte Effekte von zufälligen Schwankungen unterscheiden

Beim Durchführen eines solchen Designs legt man zunächst die zu untersuchenden Zielgrößen fest. Anschließend wählt man Faktoren, die man einstellen kann und die einen Einfluss auf diese Zielgrößen haben könnten. Nun werden für diese Faktoren Level festgelegt und so der zu untersuchende Bereich abgegrenzt. Anhand dieser Gegebenheiten entscheidet man sich für ein Modell, das man anwenden möchte. Im Folgenden wird das Konzept der **vollen Versuchsplanung** näher erläutert.

Man hat zwei Faktoren – Faktor A und Faktor B – und wählt nun je zwei Levels - #1 und #2 - aus. Um diese Einstellungen zu kombinieren muss man vier ( $2^2$  - 2 Faktoren mit 2 Levels) Experimente durchführen. Es ergibt sich also folgendes Design (Tabelle 1).

Tabelle 1: Beispiel eines vollen Versuchsplans

<b>Experiment</b>	<b>Faktor A</b>	<b>Faktor B</b>	<b>Zielgröße</b>
1	#1	#1	y1
2	#1	#2	y2
3	#2	#1	y3
4	#2	#2	y4

Anhand dieser gewonnen Daten lassen sich nun die Effekte berechnen, die die einzelnen Faktoren und die Wechselwirkungen auf die Zielgröße haben. In Abbildung 10 sind die Ergebnisse graphisch dargestellt.

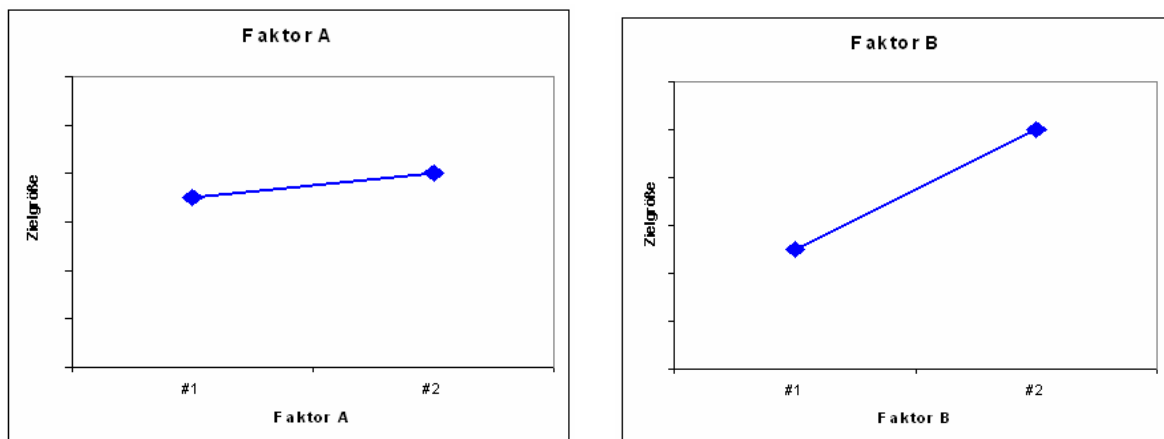


Abbildung 10: Einfluss der Faktoren A und B auf die Zielgröße

Der Effekt des Faktors A lässt sich wie folgt berechnen.

Haupteffekt des Faktors A =  $\frac{1}{2}$  (Gemittelte Zielgröße bei hoher Einstellung - gemittelte Zielgröße bei niedriger Einstellung)

Eine Wechselwirkung zeigt an, um wie viel sich der Effekt eines ersten Faktors ändert, wenn man einen zweiten Faktor von seinem Durchschnittswert auf seinen hohen Level verschiebt.

Also berechnet sich eine Wechselwirkung wie folgt:

Wechselwirkung AB =  $\frac{1}{2}$  (Effekt des Faktors A bei hohem Level von B – Effekt des Faktors A bei niedrigem Level von B)

In der Graphik (Abbildung 11) ist eine solche Wechselwirkung dadurch ersichtlich, dass die beiden Geraden nicht parallel sind.

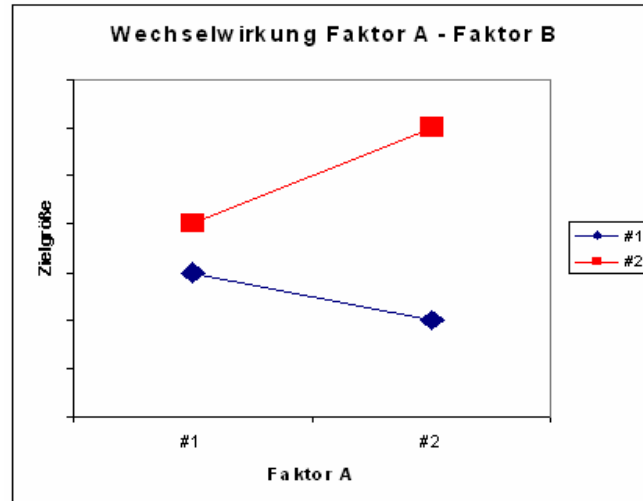


Abbildung 11: Wechselwirkung Faktor A – Faktor B

Für größere Versuchspläne, das heißt mehrere Faktoren oder Level, errechnen sich die Effekte auf gleiche Art und Weise.

Um Daten, die man mit Hilfe eines Versuchsplans erhalten hat, auszuwerten, geht man in der Regel wie folgt vor:

- Begutachten der Daten, Erstellen von Statistiken und einfachen Diagrammen  
Entdecken von Fehlern, die beispielsweise beim Abtippen entstanden sind
- Eventuell Durchführung einer Hauptkomponentenanalyse, um Korrelationen zwischen verschiedenen Zielgrößen zu entdecken
- Analyse von Effekten mit Varianzanalyse und Testen der Signifikanz  
Identifizierung von Effekten und deren Signifikanz, Auswahl von wichtigen Faktoren

Bei der Analyse von Effekten handelt es sich um die Berechnung des Einflusses der Faktoren und deren Wechselwirkungen auf die Zielgröße. Das Ermitteln der Signifikanz dieser Effekte erfolgt in der Varianzanalyse (ANOVA) [Deming 1993].

Die ANOVA ist eine klassische Methode, um die Signifikanz eines Effektes zu bewerten, indem man die Varianz einer Zielgröße in Teile zerlegt. Diese Teile sind zum einen die Varianz, die auf die Einstellung der Faktoren zurückzuführen ist, und zum anderen die der zufälligen Streuung.

Die wesentlichen Ergebnisse einer ANOVA sind:

- SS (Sum of Squares – Quadratsumme): Die Zielgrößenschwankung, die mit einer bestimmten Quelle verbunden ist, wird in SS angegeben. Es ist also der Wert für die Änderung der Zielgröße bei einer Änderung eines Faktors.
- DF (number of Degrees of Freedom – Freiheitsgrade): Jede Schwankungsquelle hat eine begrenzte Anzahl an Wegen, auf denen sie Schwankungen verursachen kann. Diese Anzahl nennt man Freiheitsgrade.
- MS = SS/DF (Mean Square – Mittel der Quadrate): Um die Zielgrößenschwankung zu berechnen, die auf dieselbe Quelle zurückzuführen ist, dividiert man die Quadratsumme SS durch die Anzahl der Freiheitsgrade DF.

- F-Wert: Er berechnet sich wie folgt: 
$$F = \frac{\text{Effekt}^2 / (m-1)}{\text{RSD}^2 / (n-1)}$$
, wobei (m-1) die Freiheits-

grade für den Effekt und (n-1) die Freiheitsgrade für den Fehler sind. Es ist also ein Vergleich von tatsächlichen Schwankungen, hervorgerufen durch einen Effekt, mit zufälligen Schwankungen. Je größer der F-Wert, desto wichtiger ist der Effekt.

- p-Wert: Der p-Wert gibt die Wahrscheinlichkeit an, mit der ein bestimmter F-Wert erhalten wird, wobei der zugehörige Effekt gleich Null ist. Erhält man also einen p-Wert von 0,002, so ist die Wahrscheinlichkeit den zugehörigen F-Wert zu erhalten, wobei der zugehörige Effekt gleich Null ist, gleich 0,2%. Dagegen ist die Wahrscheinlichkeit, dass es sich um einen echten Effekt handelt gleich 99,8%. Bei einem p-Wert von kleiner als 0,05 geht man davon aus, dass ein Effekt signifikant ist [Esbensen 2002].

### 2.4.3 Hauptkomponentenanalyse

Die Hauptkomponentenanalyse (PCA – Principal Component Analysis) ist eines der nützlichsten Werkzeuge der multivariaten Datenanalyse [Esbensen 2002]. Die PCA zerlegt eine gegebene Datenmatrix in verschiedene Teile, wobei ein Teil die Struktur der Datenmatrix und ein Teil das Rauschen, also zufällige Schwankungen, enthält.

Die Datenmatrix besteht dabei aus n Objekten, zum Beispiel Proben oder Experimenten, und aus p Variablen, zum Beispiel die Bestimmung verschiedener Substanzen; es handelt sich also um eine n•p-Matrix. Die Variablen p charakterisieren dabei jedes einzelne Objekt n vollständig, wobei eine beliebige Auswahl an Variablen möglich ist.

Ziel der PCA ist es versteckte Phänomene aufzudecken und diese zu modellieren. Eine wesentliche Rolle dabei spielt die Varianz. So gilt die fundamentale Annahme dieser



multivariaten Datenauswertung, dass die Richtung der maximalen Varianz mehr oder weniger mit versteckten Phänomenen verbunden ist.

Hat man  $p$  Variablen, so spannen diese ein  $p$ -dimensionales Koordinatensystem auf. Das heißt, dass man für eine Variable ein eindimensionales Koordinatensystem und für zwei Variable ein zweidimensionales Koordinatensystem benötigt, um diese darzustellen (Abbildung 12). Man spricht auch vom Variablenraum [Esbensen 2002].

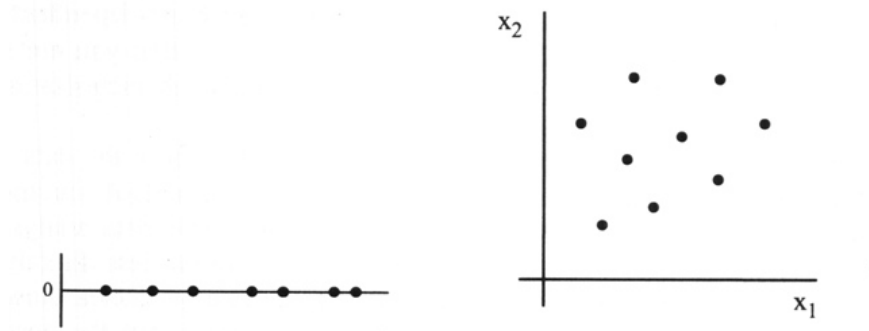


Abbildung 12: Beschreibung von Variablen im 1D- und 2D-Raum [Esbensen 2002]

Hat man beispielsweise eine  $n \times 3$ -Matrix so lassen sich diese Objekte in einem 3D-Koordinatensystem  $(x_1, x_2, x_3)$  darstellen (siehe Abbildung 13).

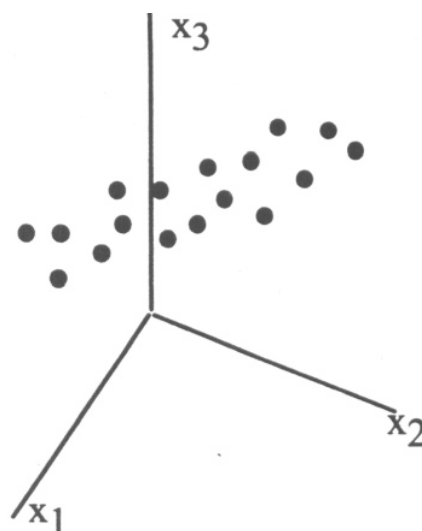


Abbildung 13: Objekte als Schwarm von Datenpunkten im 3D-Raum [Esbensen 2002]

Die graphische Darstellung dieser Datenpunkte lässt eine versteckte Struktur erkennen, es lässt sich ein Trend, ein linearer Zusammenhang ableiten. Dieses Erkennen von Kovarianzstrukturen ist das eigentliche Herzstück der PCA [Haswell 1992].

Führt man nun wie in Abbildung 14 eine Gerade durch den Schwarm an Datenpunkten ein, so beschreibt diese Gerade die Datenpunkte beinahe so effektiv wie die drei ursprünglichen

Variablen. Der Grund liegt darin, dass die ursprünglichen Variablen zum Großteil korrelieren. Die effektive Dimensionalität der Datenmatrix ist also nicht drei, sondern eher eins. Die eingeführte Gerade liegt in der Richtung der größten Varianz. Die drei Variablen  $x_1$ ,  $x_2$ ,  $x_3$  bilden also eine neue, unbekannte Variable, die eingeführte Linie – die erste Hauptkomponente (PC1 – Principal Component 1). Die PCA ermöglicht das Erkennen solcher Zusammenhänge auch bei hochdimensionalen Systemen ( $p \gg 3$ ).

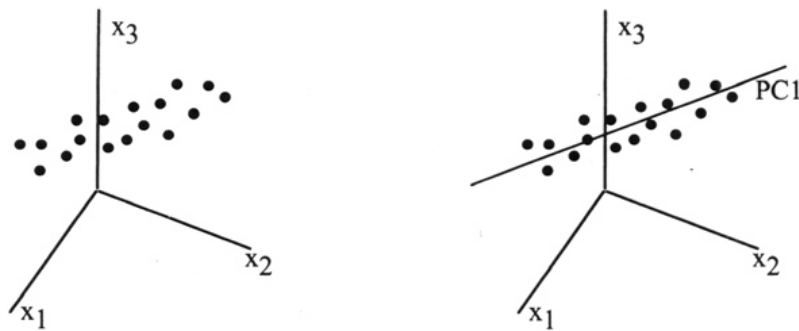


Abbildung 14: Schwarm von Datenpunkten mit PC1 [Esbensen 2002]

Versieht man den Schwarm von Datenpunkten mit einer beliebigen Geraden und projiziert die Datenpunkte senkrecht auf diese Gerade, so hat jeder Punkt  $i$  einen bestimmten Abstand  $e_i$  zur Gerade. Gesucht wird nun die Gerade bei der die Summe der Abstandsquadrate  $\sum(e_i)^2$  minimal wird. Man erhielte damit im obigen Beispiel dieselbe Gerade, die dort rein subjektiv ermittelt wurde. Man hat also nun ein objektives, mathematisches Kriterium um PC1 zu ermitteln.

Auf die gleiche Weise lassen sich auch PC2 usw. ermitteln. PC2 steht orthogonal auf PC1 (laut Definition) und liegt in der Richtung der zweitgrößten Varianz, PC3 steht orthogonal auf PC1 und PC2 und liegt in der Richtung der drittgrößten Varianz. Es wird also aus einem korrelierten Koordinatensystem ein orthogonales Hauptkomponentenmodell (PC-Modell) entworfen.

Ein PC-Modell ist also eine Annäherung an eine gegebene Datenmatrix  $X$ , das heißt ein Modell von  $X$ , das anstelle des wirklichen Originals benutzt wird.

Die Anzahl der PCs wird durch die Anzahl der Variablen  $p$  und die Anzahl der Objekte  $n$  begrenzt. So ist die maximale Anzahl entweder  $(n-1)$  oder  $p$ , je nach dem welche Zahl kleiner ist; aber in der Praxis arbeitet man in der Regel mit wesentlich weniger Hauptkomponenten.

Die PCs, die berechnet werden, sind zueinander stets orthogonal und sie stellen nacheinander kleiner werdende Varianzen dar, das heißt sie spreizen die Datenpunkte immer weniger auf. Also werden mit zunehmender Anzahl an Hauptkomponenten eventuell keine Phänomene mehr entdeckt, sondern es handelt sich lediglich um statistisches Rauschen.

Diese orthogonalen Achsen, die ein Maximum der Varianz erklären, haben einen gemeinsamen Ursprung. Hierbei kann es sich um den gleichen Ursprung handeln, den die Originalvariablen hatten, aber in der Regel wird der Ursprung in den Schwerpunkt des Datensatzes, den Mittelwert jeder Variablen, verlegt. Die Daten werden also zentriert; das heißt jede Variable besitzt einen Mittelwert von Null.

Ein weiterer Bestandteil der PCA ist das Skalieren der Daten. Hier ist der gebräuchlichste Weg das Standardisieren. Es wird jedes Element der Datenmatrix  $X$  mit dem Kehrwert der Standardabweichung der entsprechenden Variablen multipliziert. Die Folge ist, dass alle Variablen die gleiche Varianz aufweisen,  $\text{Var}(p_i) = 1$  (Abbildung 15).

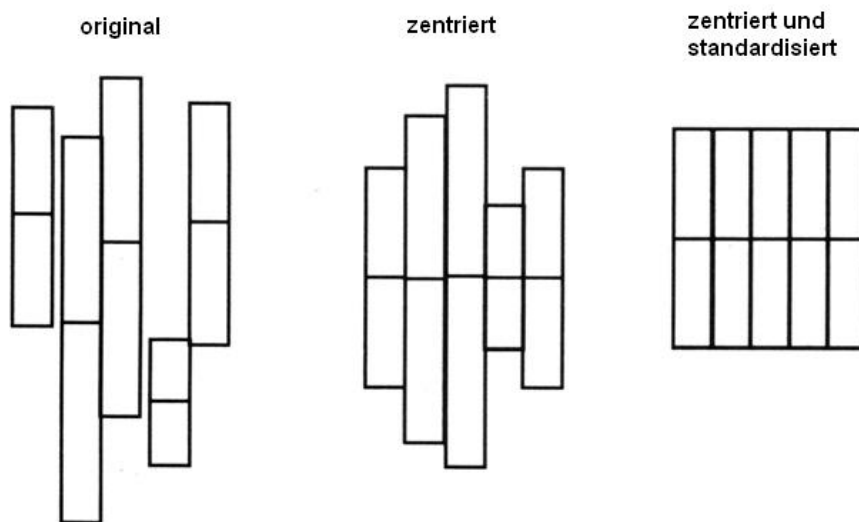


Abbildung 15: Zentrieren und Standardisieren von Variablen [Esbensen 2002]

Dies hat den Vorteil, dass eine Variable, die zum Beispiel in kg gemessen wird und eine entsprechende Varianz aufweist, nicht über eine zweite Variable, die zum Beispiel in mg gemessen wird und eine entsprechende Varianz aufweist, dominiert. Allerdings ist dieses Vorgehen nicht immer sinnvoll, da so beispielsweise die Varianz einer Variablen, die auf statistische Schwankungen zurückzuführen ist, das gleiche Gewicht erhält wie die Varianz einer anderen Variablen, die auf einen tatsächlichen Trend hindeutet. Es ist also immer von der Fragestellung abhängig ob und wie die Varianzen einzelner Variablen gewichtet werden. Ein weiterer wichtiger Arbeitsschritt ist die Betrachtung von Ausreißern. Ist der Ausreißer auf eine fehlerhafte Messung oder ähnliches zurückzuführen, so sollte man diesen Wert außen vor lassen, da ansonsten das Modell fehlerhaft wird. Handelt es sich aber um einen wirklichen Wert, so sollte man ihn berücksichtigen, weil ansonsten das Modell dieses Phänomen nicht erklären kann. Das Integrieren oder Ausschließen von potentiellen Ausreißern bedarf also einer genauen Überprüfung.

Die wichtigsten Ergebnisse einer PCA sind der so genannte Score-Plot und der so genannte Loading-Plot.

Wie erwähnt handelt es sich bei der PCA um eine Projektionsmethode. So werden zum Beispiel die  $n$  Objekte auf PC1 projiziert. Jedes Objekt ergibt dann einen bestimmten Punkt auf der Hauptkomponentenachse mit einem bestimmten Abstand zum Ursprung der PC; man nennt diesen Abstand  $t_{i1}$ , dies ist der so genannte „Score“. Wird das gleiche Objekt  $i$  nun auf PC2 projiziert, so ergibt sich dort der Abstand  $t_{i2}$ . Das Objekt  $i$  erhält also neue Koordinaten  $t_{i1}$ ,  $t_{i2}$  für den PC-Raum. Jedes Objekt hat so viele Koordinaten wie es PC-Achsen gibt. Trägt man nun die Scores aller Objekte zusammen erhält man die Score-Matrix  $T$ . Jedes Objekt bildet eine Zeile in  $T$ ; die Spalten in  $T$  – die Hauptkomponenten – sind orthogonal. Die Spalten sind also die Score-Vektoren  $t$  der einzelnen Hauptkomponenten. Trägt man nun zwei Score-Vektoren  $t$ , beispielsweise  $t_{12}$ , also PC1 und PC2, für  $n$  Objekte auf, so erkennt man die relative Lage der Objekte bezüglich der ersten und zweiten Hauptkomponente (siehe Abbildung 16).

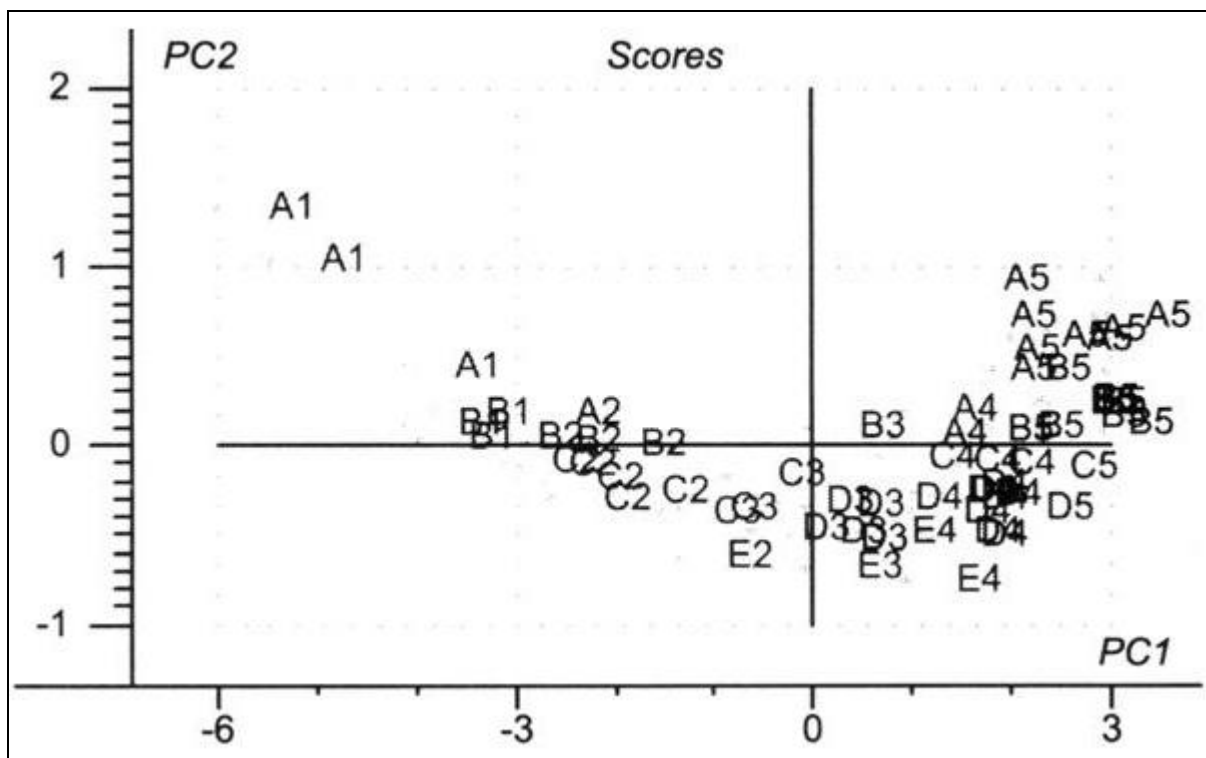


Abbildung 16: Score-Plot [Esbensen 2002]

Bei Abbildung 16 handelt es sich um einen Score-Plot. Hier wurden verschiedene Proben (A1, A2, ... E5) auf verschiedene Parameter (V, W, X, Y, Z) untersucht. Die Buchstaben A, B, C ... charakterisieren eine bestimmte Eigenschaft „M“ und die Ziffern 1, 2, 3 ... charakterisieren eine andere Eigenschaft „N“. Betrachtet man nun die Änderung der Ziffern entlang von PC1, so erkennt man, dass sich die entsprechende Eigenschaft „M“ von links

nach rechts systematisch ändert. Daraus lässt sich erkennen, dass PC1 stark mit dieser Eigenschaft „M“ korreliert, obwohl dies keine Variable  $p$  der Datenmatrix  $X$  war. Man sieht also, dass die Eigenschaft „M“ einen wesentlichen Einfluss hat. Betrachtet man nun PC2, so ist ersichtlich, dass von oben nach unten Gruppen von Buchstaben auftreten, oben A und unten E. Daraus ist ableitbar, dass PC2 stark mit der Eigenschaft „N“ zusammenhängt. Ein großer Vorteil der PCA ist, dass man die Hauptkomponenten, die ja alle orthogonal zueinander sind, unabhängig voneinander betrachten kann.

Aus Score-Plots lässt sich auch folgendes ableiten:

- Identifizierung von Ausreißern
- Identifizierung von Trends
- Identifizierung von Gruppen

Jede Hauptkomponente kann als lineare Kombination der ursprünglichen  $p$  Variablen dargestellt werden. Jede PC enthält  $p$  Koeffizienten, einen für jede der  $p$  Variablen. Diese Koeffizienten nennt man „Loadings“. Die Loadings aller PCs ergeben eine Matrix  $P$ . Diese Matrix  $P$  ist eine Transformationsmatrix; sie transformiert den ursprünglichen Variablenraum in den neuen Raum, der durch die PCs aufgespannt wird. Die Spalten der Matrix  $P$  sind zueinander orthogonal, sie entsprechen den einzelnen Hauptkomponenten.

Diese Loadings zeigen die Beziehung zwischen den Originalvariablen und den Hauptkomponenten; man sieht also welche Variable  $p_i$  welchen Einfluss auf  $PC_j$  ausübt. Der Loading-Plot ist sozusagen eine „Landkarte“ der ursprünglichen Variablen [Esbensen 2002].

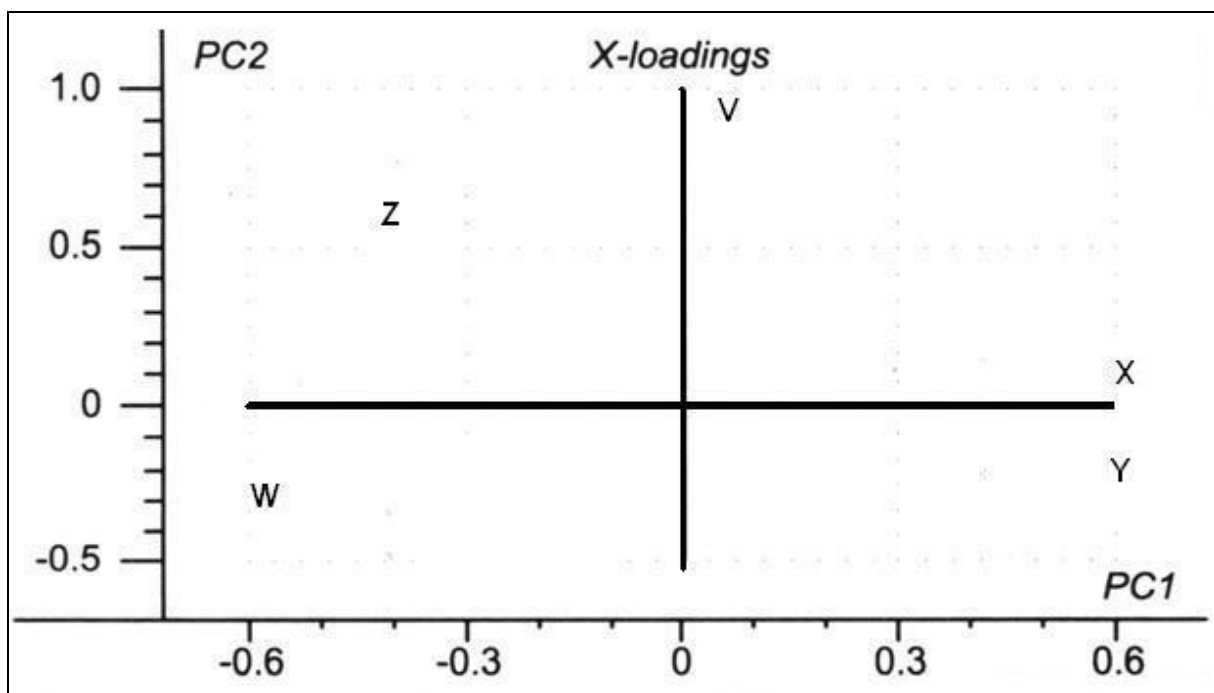


Abbildung 17: Loading-Plot [Esbensen 2002]

Bei Abbildung 17 handelt es sich um den Loading-Plot des oben bereits genannten Beispiels. Hier sind die Variablen, die zur Beurteilung der Proben herangezogen wurden in einem PC1-PC2-Diagramm dargestellt. Die Koordinaten der einzelnen Variablen entsprechen hierbei den entsprechenden Koeffizienten der Matrix P.

Man sieht, dass zum Beispiel die Variable „X“ einen sehr starken Einfluss auf PC1 hat; man sagt „X lädt sehr stark auf PC1“. Ebenso die Variable „Y“. Dagegen lädt „V“ sehr stark auf PC2 und „W“ lädt entgegengesetzt zu „X“ auf PC1.

Betrachtet man nun den Score-Plot (Abbildung 16) und Loading-Plot (Abbildung 17) dieses Falls zusammen, kann man weitere Rückschlüsse ziehen. Im Score-Plot hat die Eigenschaft „M“ starken Einfluss auf PC1, im Loading-Plot die Variablen „X“ und „Y“. Man kann also anhand von Messungen dieser zwei Variablen „X“ und „Y“ die Eigenschaft „M“ bestimmen.

Es ist also möglich durch Analysieren der Score- und Loading-Plots Korrelationen zwischen Variablen aufzudecken, Gruppen zu identifizieren oder sozusagen neue Variable zu definieren [Einax 1997].

#### **2.4.4 SIMCA: Ein Verfahren zur Klassifizierung von Objekten**

Um zu testen, ob eine Probe zu einer bereits existierenden Gruppe gehört, benutzt man Verfahren die eine solche Klassifizierung ermöglichen. Solche Verfahren sind zum Beispiel die Clusteranalyse oder auch die Diskriminanzanalyse. Da hier bereits die PCA verwendet wurde, wird zur Klassifizierung SIMCA (Soft Independent Modelling of Class Analogy) herangezogen.

Die Philosophie, die hinter SIMCA steckt, ist, dass Objekte einer Klasse ähnliche oder gar gleiche Eigenschaften besitzen. Alle Objekte einer Gruppe haben also ein ähnliches „Muster“, das diese Objekte untereinander ähnlicher macht als sie es mit Objekten anderer Gruppen wären. Um nun ein neues Objekt zu klassifizieren sucht man unter den bereits bekannten Gruppen diejenige aus, mit der das neue Objekt die größten Gemeinsamkeiten aufweist. Dieses Verfahren ermöglicht es den Objekten sowohl ihre wesentlichen Eigenheiten als auch ihr gemeinsames Muster zu zeigen; die Modellierung aber beruht nur auf den gemeinsamen Eigenschaften.

SIMCA ist ein Verfahren, das größtenteils auf der mehrfachen Hintereinanderausführung der PCA beruht. Steht man am Anfang einer SIMCA, so gibt es zwei Möglichkeiten:

- Die zu unterscheidenden Gruppen sind bekannt, das heißt es ist bekannt welche Objekte zu welcher Gruppe gehören
- Es ist von vorneherein kein Wissen über die Gruppenzugehörigkeit der Objekte verfügbar

Im zweiten Fall kann man jede beliebige datenanalytische Methode heranziehen um zwischen den Gruppen zu unterscheiden, falls man sie unterscheiden kann. Dies können Methoden sein wie zum Beispiel die Clusteranalyse oder die PCA. Das heißt man wendet die PCA einfach auf den kompletten Trainingsdatensatz an.

Anhand dieser Ergebnisse werden die Objekte, die den Daten zugrunde liegen, in Gruppen eingeteilt. Um diese Gruppierungen vorzunehmen ist es wichtig alles an Information über die Daten zu sammeln, was verfügbar ist.

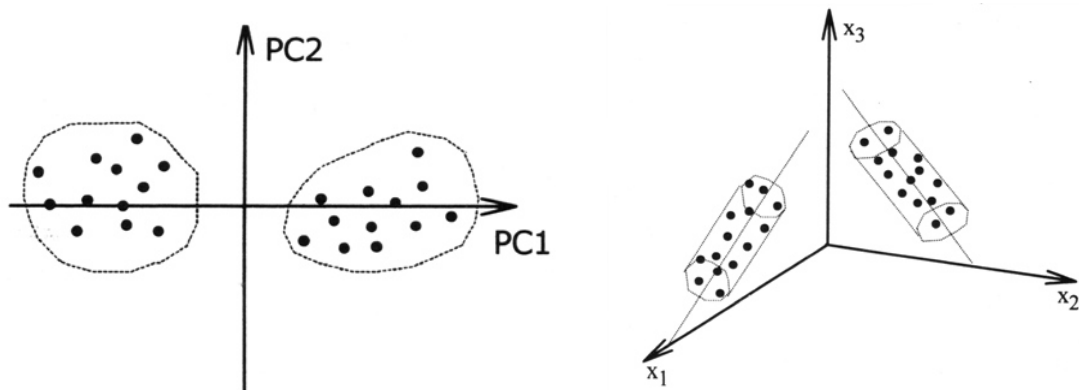


Abbildung 18: Gruppierungen im Score-Plot (links); jede Gruppe modelliert mit eigener PCA (rechts) [Esbensen 2002]

Nachdem die Gruppen getrennt sind, wird für jede einzelne ein separates PCA-Modell erstellt (Abbildung 18). Dabei kann man die einzelnen Gruppen unterschiedlich behandeln, was das Standardisieren oder Gewichten der Variablen angeht, um ein Maximum an Trennung zu erreichen. Jedes Modell muss auf Ausreißer überprüft und gegebenenfalls neu berechnet werden. Es ist zu diesem Zeitpunkt besonders wichtig die Score-Plots der einzelnen Gruppen sorgfältig zu prüfen, um eventuelle Untergruppierungen oder gar das Auftreten neuer Gruppen zu erkennen. In diesem Stadium wird auch für jedes Modell die optimale Anzahl an Hauptkomponenten festgelegt.

Beim nun folgenden Klassifizieren neuer Objekte, die natürlich durch die gleichen Variablen beschrieben sein müssen, werden die erstellten Modelle mit der entsprechenden Anzahl an PCs als Vergleich ausgewählt.

Über eine voreingestellte Signifikanz wird dann entschieden, ob und zu welchem Modell die neuen Objekte gehören.

Als Ergebnis liefert die SIMCA den so genannten Coomans Plot und den so genannten Si-Hi-Plot.

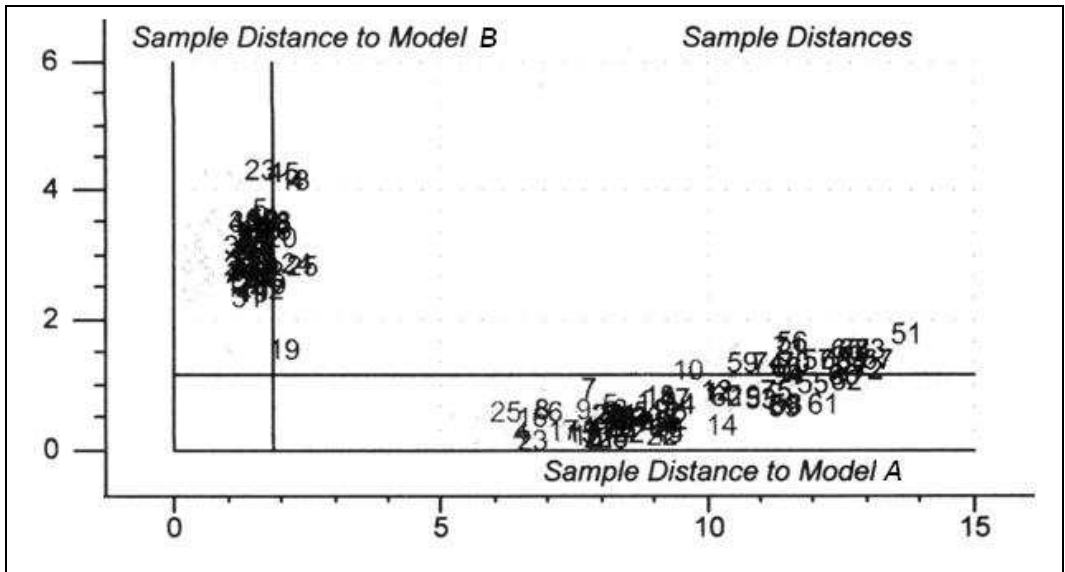


Abbildung 19: Coomans Plot

Der Coomans Plot (Abbildung 19) zeigt den Abstand der Objekte zu zwei ausgewählten Modellen. Die horizontale und vertikale Linie geben dabei die voreingestellte Signifikanz an. Liegt ein Objekt links der vertikalen Linie, gehört es zur entsprechenden Gruppe; liegt es unter der horizontalen Linie, gehört es zu dieser entsprechenden Gruppe. Liegt ein Objekt innerhalb beider Grenzen, so ist eine Zugehörigkeit zu beiden Gruppen denkbar. Da der Coomans Plot aber nur den senkrechten Abstand eines Objektes zur Gruppenoberfläche angibt, ist es auch erforderlich den Abstand des Objektes zur Gruppenmitte zu betrachten. Dies geschieht mit Hilfe des Si-Hi-Plots.

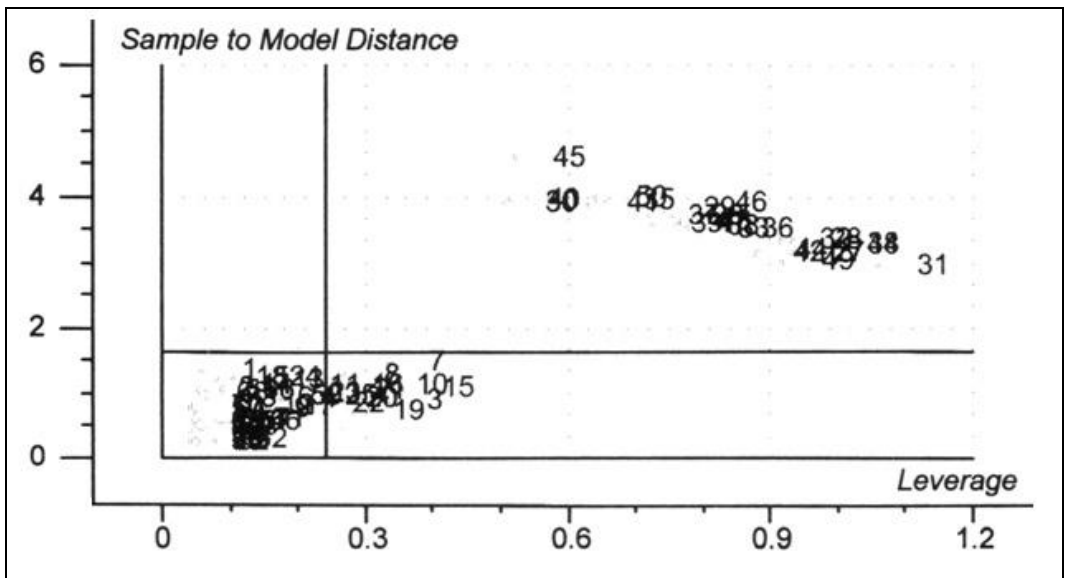


Abbildung 20: Si-Hi-Plot [Esbensen 2002]



In diesem so genannten Si-Hi-Plot (Abbildung 20), der auch Gruppenzugehörigkeitsdiagramm genannt wird, sind die Grenzen für die Klassifizierung wiedergegeben; sowohl der Abstand des Objektes zum Modell als auch der Abstand zum Zentrum des Modells. Dabei ist die Grenze für „Abstand Objekt-Modell“ als horizontale Linie – sie ist abhängig vom gewählten Signifikanzniveau – dargestellt; die Grenze für „Abstand zum Modellzentrum“ ist als vertikale Linie – sie ist abhängig von der Anzahl der verwendeten PCs – dargestellt. Dieser Abstand zum Modellzentrum – Leverage – fasst die Informationen, die dem Modell entsprechen, zusammen, das heißt die Variation, die durch die PCs beschreiben wird.

Objekte, die innerhalb beider Linien – das heißt nahe des Ursprungs – liegen, gehören zweifelsfrei zum untersuchten Modell. Objekte, die außerhalb beider Linien liegen – das heißt im rechten, oberen Quadranten – gehören nicht zum untersuchten Modell. Liegt ein Objekt im rechten unteren Quadranten, das heißt, dass der Abstand zum Modell innerhalb der Grenzen liegt, aber der Abstand zum Modellzentrum zu groß ist, so bedeutet dies, dass dieses Objekt einen Extremfall darstellt oder streng genommen nicht zur entsprechenden Gruppe gehört.

Weitere Informationen, die SIMCA liefert, sind die Güte der Trennung durch die Modelle, die Trennkraft einzelner Variablen bezüglich aller Modelle oder eines einzelnen Modells [Esbensen 2002].

## **3. Untersuchungsmaterialien**

### **3.1 Holzproben**

Es wurden Eichenholzchips der Firma J. Rettenmaier & Söhne GmbH&CO.KG (73494 Rosenberg) (JRS) und der Firma Erbslöh Geisenheim Getränketechnologie (65366 Geisenheim) (Erbslöh) verwendet. Die Chipsproben waren in Folie lichtdicht verschweißt.

Folgende Chipsproben wurden verwendet:

- JRS, schwäbische Eiche, klein, medium toasted (Firmenbezeichnung 4MT)
- JRS, schwäbische Eiche, klein, heavy toasted (Firmenbezeichnung 4HT)
- JRS, schwäbische Eiche, groß, medium toasted (Firmenbezeichnung 8MT)
- JRS, schwäbische Eiche, groß, heavy toasted (Firmenbezeichnung 8HT)
- Erbslöh, amerikanische Eiche, klein, medium toasted (Firmenbezeichnung )
- Erbslöh, französische Eiche, klein, heavy toasted (Firmenbezeichnung )

### **3.2 Weine**

Für die Durchführung der Versuche wurden folgende Weine verwendet:

- Modellwein (13% v/v Ethanol in Wasser; mit Weinsäure auf pH=3,30 eingestellt)
- 2003 Residenzschoppen, Weißwein trocken, Franken, Staatlicher Hofkeller Würzburg Qualitätswein, 12,5% vol; kein Holzkontakt
- Italienischer Tafelwein (Cantinello Bianco; Vino da tavola; Imbottigliato da Castellani Vini S.A.S., 10,5% vol)
- 26 verschiedene fränkische Barriqueweine des Handels

Zudem wurden durch die Bayerische Landesanstalt für Weinbau und Gartenbau, Veitshöchheim, folgende Weine und Traubenmoste zur Verfügung gestellt:

- Silvanermost
- Weißburgunder (verschiedene Chipsbehandlungen)
- Grauburgunder (verschiedene Chipsbehandlungen)

## 4. Methodenentwicklung

### 4.1 Reagenzien und Referenzsubstanzen

Für die Methodenentwicklung und die Analytik der Proben wurden Dichlormethan Rotisolv Pestilyse (Firma Roth), n-Pentan Picograde für die Rückstandsanalyse (Firma LGC Promochem GmbH), Methanol für die HPLC (Firma LGC Promochem GmbH) und Ethanol 99,7-100% v/v (Firma VWR International Ltd.) verwendet. Die verwendeten Referenzsubstanzen waren alle in analytischer Reinheit verfügbar und wurden von den Firmen ABCR, Alfa Aesar, Aldrich, Lancaster, Roth und Sigma bezogen; sie sind in Tabelle 2 aufgeführt.

Tabelle 2: Referenzsubstanzen mit CAS-Nummer und Hersteller

<b>Substanz</b>	<b>CAS-Nummer</b>	<b>Hersteller</b>
2-Octanol (interner Standard)	123-96-6	Fluka
Furfural	98-01-1	Roth
5-Methylfurfural	620-02-0	Aldrich
Guaiacol	90-05-1	Aldrich
4-Methylguaiacol	93-51-6	Aldrich
4-Ethylguaiacol	2785-89-9	Aldrich
E-Whiskylacton	39212-23-2	Aldrich
5-Acetoxyethyl-2-furaldehyd	10551-58-3	Sigma
4-Vinylguaiacol	7786-61-0	Alfa Aesar
Z-Whiskylacton	55013-32-6	Aldrich
2,6-Dimethoxyphenol	91-10-1	Aldrich
Eugenol	97-53-0	Roth
4-Propylguaiacol	2785-87-7	Aldrich
Vanillin	121-33-5	Roth
Isoeugenol	97-54-1	Aldrich
Acetovanillon	498-02-2	Aldrich
d-Decalacton	705-86-2	Aldrich
Methylvanillat	3943-74-6	Lancaster
1-(4-Hydroxy-3methylphenyl)-2-propanon	2503-46-0	Sigma
Ethylvanillat	617-05-0	ABCR
2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol	6627-88-9	Sigma
Syringaaldehyd	134-96-3	Roth

Bei den verwendeten Festphasenkartuschen handelte es sich um Styrol-Divinyl-Benzol-Phasen. Es wurden Kartuschen mit 200mg Festphasenmaterial (Sorbens) und einem Säulenvolumen von 3ml verwendet; dabei handelte es sich um LiChrolut EN, Firma Merck, Chromabond HR-P, Firma Macherey-Nagel, Chromabond easy, Firma Macherey-Nagel, strata-X, Firma phenomenex, und Bond-Elut ENV, Firma Varian.

## **4.2 Analysensysteme**

Für die Methodenentwicklung und Analytik der Proben wurden eine Apparatur zur Flüssig-Flüssig-Extraktion nach Kutscher-Steudel, eine SPE-Vakuumkammer, Firma J.T. Baker, und ein GC-MS-System, Firma Varian, verwendet.

Beim GC-MS-System handelte es sich um einen Varian 3900-Gaschromatographen, der mit einem Saturn 2100T-Ioneneinfangdetektor gekoppelt war. Die verwendete Säule war eine Zebron ZB-5 MS-Säule (5% Phenyl-95%-dimethyl-polysiloxan; 30m Länge x 0,25mm ID x 0,25µm Filmdicke), Firma phenomenex. Das GC-MS-System arbeitete mit einem CombiPAL-Autosampler von CTC Analytics und wurde mittels der Software MS Workstation 6.42, Firma Varian, gesteuert.

## **4.3 Chromatographische Bedingungen**

Um das Temperaturprogramm der gaschromatographischen Trennung zu optimieren, wurden 20 ausgewählte Substanzen als Standardlösungen in Dichlormethan mit einer Konzentration von 5mg/l gelöst. Diese Lösungen wurden zunächst einzeln und dann in einer Mischung injiziert. Mit folgendem Temperaturprogramm konnte die beste Trennung erzielt werden:

- Säulentemperatur 50°C für 0 Minuten
- Aufheizen auf 120°C mit 4°C/min
- Säulentemperatur 120°C für 0 Minuten
- Aufheizen auf 180°C mit 2,5°C/min
- Säulentemperatur 180°C für 0 Minuten
- Aufheizen auf 240°C mit 20°C/min

Weitere Geräteparameter:

- Injektortemperatur 240°C
- Split-Verhältnis 1:10
- Flüssiginjektion mit 10µl-Spritze; Injektionsvolumen 1µl
- Trägergasfluss (Helium) konstant bei 1ml/min
- Ionisierungsmodus: Elektronenstoßionisation mit Automatic Gain Control
- Bis zwei Minuten: Solvent Delay
- Zwei Minuten bis 40 Minuten Scanmodus: Massenbereich 35-200 m/z

Mit dem hier ermittelten Temperaturprogramm ergaben sich für die einzelnen Substanzen und den verwendeten internen Standard 2-Octanol die in Tabelle 3 wiedergegebenen Retentionszeiten.

Tabelle 3: Retentionszeiten und zur Quantifizierung verwendetes Masse-Ladungsverhältnis aller Substanzen

Substanz	Retentionszeit [min]	m/z für Quantifizierung
2-Octanol (interner Standard)	8,818	45
Furfural	4,473	95
5-Methylfurfural	7,706	109
Guaiacol	11,758	109
4-Methylguaiacol	15,31	123
5-(Hydroxymethyl)-furfural	16,655	97
4-Ethylguaiacol	18,267	137
E-Whiskylacton	18,706	99
5-Acetoxy-methyl-2-furaldehyd	19,329	126
4-Vinylguaiacol	19,515	150
Z-Whiskylacton	19,865	99
2,6-Dimethoxyphenol	20,883	154
Eugenol	21,139	164
4-Propylguaiacol	21,508	137
Vanillin	22,687	151
Isoeugenol	24,719	164
Acetovanillon	25,159	151
d-Decalacton	26,566	71
Methylvanillat	27,454	151
1-(4-Hydroxy-3-methylphenyl)-2-propanon	28,002	180
Ethylvanillat	30,342	151
2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol	31,031	194
Syringaaldehyd	33,311	182

#### **4.4 Identifizierung der Aromastoffe in einem Chipskonzentrat**

Um die Substanzen zu identifizieren, die zum Aromaprofil der verwendeten Eichenholzchips sowie Holz- und Barriquefässern beitragen und in den Wein übergehen, wurde ein „Chipskonzentrat“ hergestellt. Dazu wurden 50g Chips (JRS; schwäbische Eiche; klein; heavy toasted) in 500ml Modellwein für elf Tage eingelegt. Diese Dosierung entspricht etwa dem zehnfachen der Praxis.

Nach Abschluss der Einwirkphase wurden die Chips abfiltriert und das Filtrat mittels Flüssig-Flüssig-Extraktion kontinuierlich extrahiert. Hierzu wurden 250ml der Modelllösung mit 200ml Pentan-Dichlormethan-Mischung (4:1) in einer Extraktionsapparatur nach Kutscher-Steudel sieben Stunden extrahiert. Nach Trennung der Phasen wurde die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert und im Wasserbad an einer Vigreux-Kolonnen auf ungefähr 1ml eingedunstet. Das erhaltene Konzentrat wurde mittels GC-MS analysiert. Die Substanzen wurden über Vergleichsspektren aus der Spektrenbibliothek (Wiley) und der jeweiligen Retentionszeit identifiziert. Als interner Standard wurde 2-Octanol verwendet.

Ein Chromatogramm ist in Abbildung 21 dargestellt.

Die Substanzen 4-Vinyl- und 4-Propylguaiacol sowie  $\delta$ -Decalacton wurden im Chipskonzentrat nicht bzw. in sehr geringen Mengen gefunden, so dass sie nicht in Abbildung 21 gekennzeichnet sind. Aus den Ergebnissen von Jarauta ist abzuleiten, dass diese Substanzen nicht aus dem getoasteten Holz stammen [Jarauta 2005].

Bei dieser qualitativen Analyse konnten nach Kenntnis des Autors im Zusammenhang mit Eichenholzchips zum ersten Mal die Substanzen 5-Acetoxy-methyl-2-furaldehyd,

1-(4-Hydroxy-3-methylphenyl)-2-propanon und 2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol nachgewiesen werden.

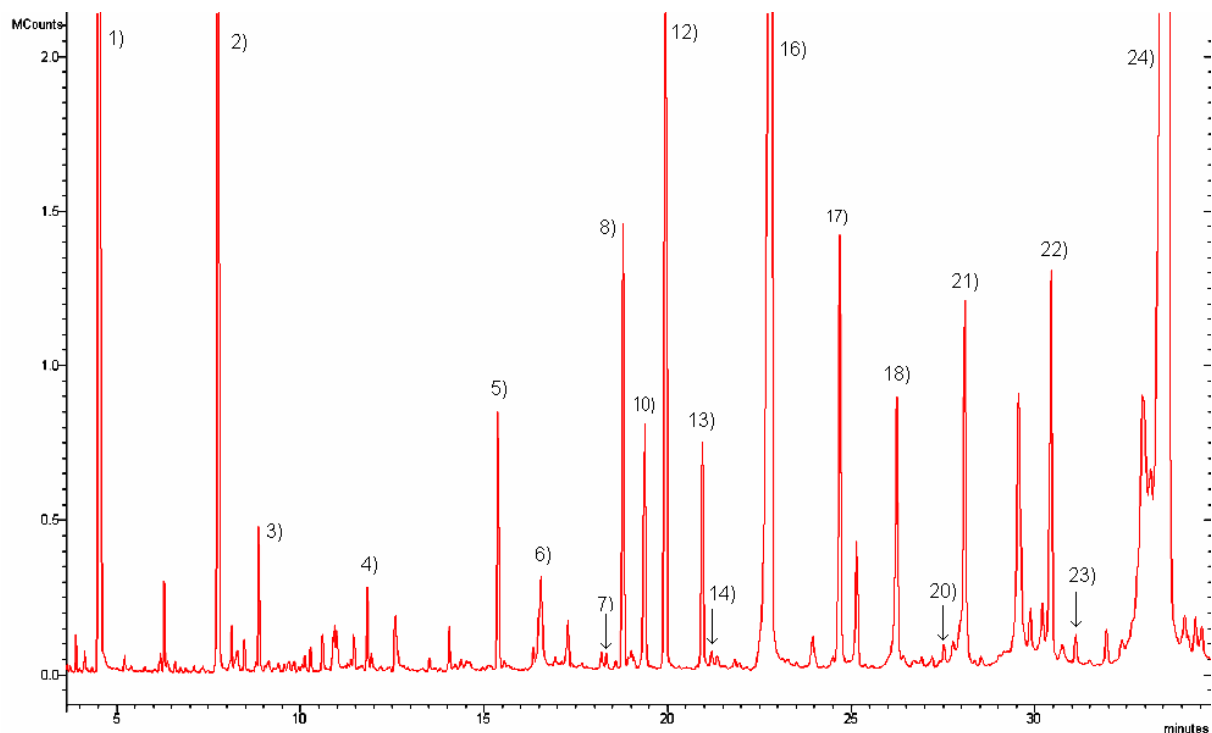
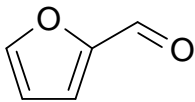
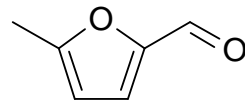


Abbildung 21: Chromatogramm des verwendeten Chipskonzentrats (1=Furfural, 2=5-Methylfurfural, 3=2-Octanol, 4=Guaiacol, 5=4-Methylguaiacol, 6=5-(Hydroxymethyl)-furfural, 7=4-Ethylguaiacol, 8=E-Whiskylacton, 10=5-Acetoxymethyl-2-furaldehyd, 12=Z-Whiskylacton, 13=2,6-Dimethoxyphenol, 14=Eugenol, 16=Vanillin, 17=Isoeugenol, 18=Acetovanillon, 20=Methylvanillat, 21=1-(4-Hydroxy-3-methylphenyl)-2-propanon, 22=Ethylvanillat, 23=2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol, 24=Syringaldehyd)

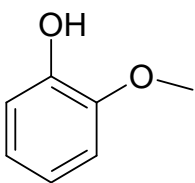
Die in den Holzchips identifizierten bzw. im Rahmen der Analytik erfassten Substanzen im Überblick:



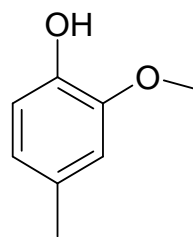
Furfural



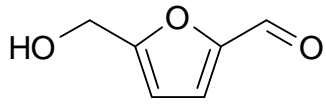
5-Methylfurfural



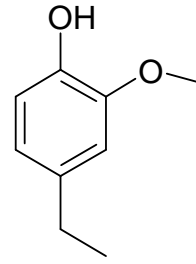
Guaiacol



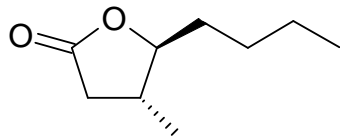
4-Methylguaiacol



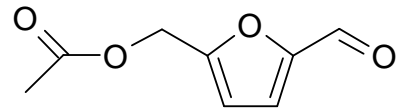
5-(Hydroxymethyl)-furfural



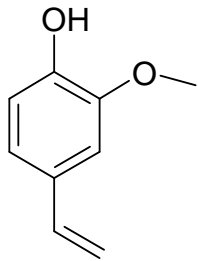
4-Ethylguaiacol



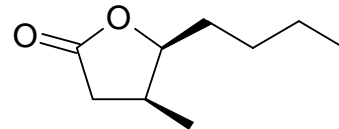
E-Whiskylacton



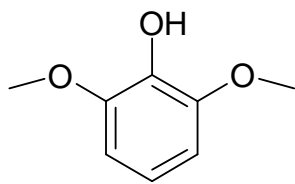
5-Acetoxyethyl-2-furaldehyd



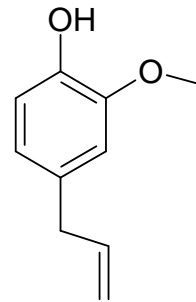
4-Vinylguaiacol



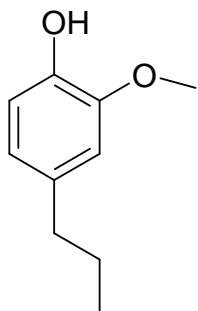
Z-Whiskylacton



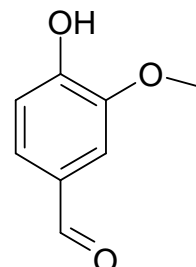
2,6-Dimethoxyphenol



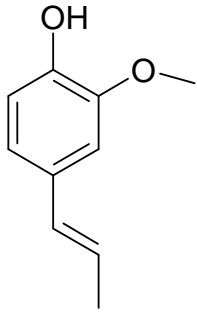
Eugenol



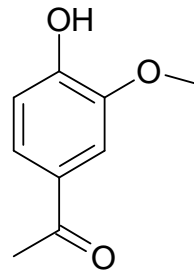
4-Propylguaiacol



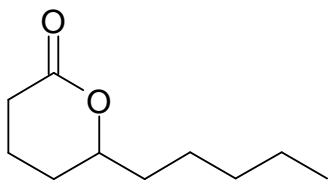
Vanillin



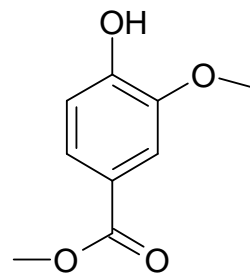
Isoeugenol



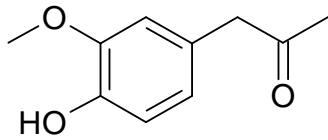
Acetovanillon



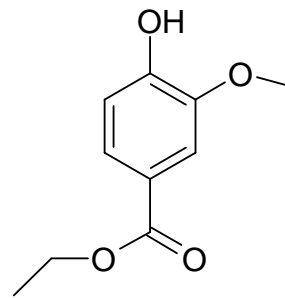
$\delta$ -Decalacton



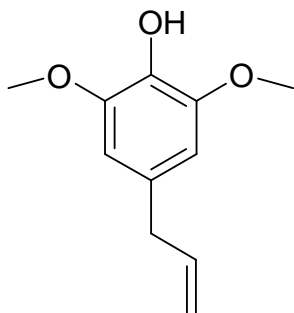
Methylvanillat



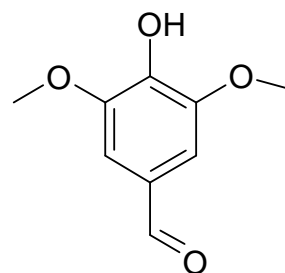
1-(4-Hydroxy-3-methylphenyl)-2-propanon



Ethylvanillat



2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol



Syringaaldehyd



## 4.5 Festphasenauswahl

Da mit verschiedenen Umkehrphasen, unter anderem einer Styrol-Divinyl-Benzol-Phase, bereits gute Ergebnisse zur Anreicherung von Weinaromen erzielt wurden [Ferreira 2002], [Ferreira 2004], wurden SPE-Kartuschen mit einer solchen Phase verschiedener Hersteller getestet.

- LiChrolut EN (200mg, 3ml), Firma Merck
- Chromabond HR-P (200mg, 3ml), Firma Macherey-Nagel
- Chromabond easy (200mg, 3ml), Firma Macherey-Nagel
- strata-X (200mg, 3ml), Firma phenomenex
- Bond-Elut ENV (200mg, 3ml), Firma Varian

Entscheidungskriterium für die Auswahl war die Wiederfindung von neun ausgewählten Substanzen, die in Modellwein gelöst wurden. Die Wiederfindung wurde wie folgt ermittelt:

$$WDF = \frac{\frac{\text{Fläche (Analyt nach SPE)}}{\text{Fläche (interner Standard)}}}{\frac{\text{Fläche (Analyt, 100\%)}}{\text{Fläche (interner Standard)}}}$$

Die neun ausgewählten Substanzen waren bezüglich der Retentionszeit über das ganze Chromatogramm verteilt und beinhalteten alle relevanten Stoffklassen.

Die Schritte der Festphasenextraktion im Überblick:

- Spülen mit 3ml Dichlormethan (Volumenstrom 2ml/min)
- Konditionieren mit 3ml Methanol (Volumenstrom 2ml/min)
- Spülen mit 3ml Ethanol (13vol-% in Wasser) (Volumenstrom 2ml/min)
- Laden mit 50ml Probe (Volumenstrom 2ml/min)
- Trocknen für 15min (p=-0,6bar)
- Elution mit zweimal 0,5ml Dichlormethan (p=-0,1bar)
- Zugabe von 100µl des internen Standards 2-Octanol (c=100µg/ml in Dichlormethan) zum Eluat

Tabelle 4: Wiederfindungsraten in % von neun ausgewählten Substanzen

	strataX	LiChrolut EN	Chromabond HR-P	Chromabond easy	Bondelut ENV
Furfural	21,0%	46,0%	34,2%	22,6%	8,0%
5-Methylfurfural	84,1%	126,6%	104,2%	81,5%	38,0%
Guaiacol	117,6%	99,1%	94,1%	89,9%	64,8%
Maltol	4,5%	6,1%	1,6%	1,5%	0,7%
E-Whiskylacton	114,2%	99,6%	94,6%	94,2%	88,1%
Z-Whiskylacton	113,3%	101,0%	94,3%	93,6%	89,0%
2,6-Dimethoxyphenol	124,8%	80,2%	81,7%	77,6%	58,7%
Eugenol	120,1%	94,0%	90,1%	89,3%	83,7%
Ethylvanillat	109,8%	72,1%	73,4%	64,1%	81,0%

Die SPE-Kartuschen Chromabond HR-P, Chromabond easy und Bond Elut ENV lieferten für fast alle Analyte schlechtere Wiederfindungen im Vergleich zu strata-X und LiChrolut EN (siehe Tabelle 4). Für die beiden letzteren wurde eine Wiederholungsmessung durchgeführt. Da LiChrolut EN eine geringere Streuung zeigte ( $\pm 4\%$  absolut im Vergleich zu  $\pm 10\%$  absolut), wurde diese für die weiteren Untersuchungen verwendet.

Diese Ergebnisse bestätigen die Untersuchungen von Ferreira. Auch hier wurde bereits festgestellt, dass sich LiChrolutEN, Firma Merck, aufgrund der außergewöhnlich hohen Extraktionskapazität des Sorbens gut für die Herstellung nicht-selektiver Weinextrakte eignet [Ferreira 2004]. Auch Ferreira fand zum Teil schlechte Wiederfindungen, vor allem für Furfural, ermittelt [Ferreira 2002].

#### **4.6 Kalibrierung, Nachweis- und Bestimmungsgrenze**

Für die Kalibrierung wurden die 21 ausgewählten Substanzen in einem einfachen, weißen italienischen Tafelwein (siehe 3.2) angesetzt. Der unter Punkt 3.2 genannte Residenzschoppen wurde hier nicht verwendet, da in ihm, obwohl nicht in Holz gelagert, einige Substanzen vorhanden waren, die analytisch bestimmt werden sollten.

Die Kalibrierung erfolgte unter Einbeziehung der Festphasenextraktion, um unterschiedliche Wiederfindungen bei verschiedenen Konzentrationen zu berücksichtigen. Es wurden für jeden Analyten sechs bzw. acht Standards zum italienischen Wein addiert. Jeder Standard wurde dreimal gemessen.

Zur Quantifizierung eines Analyten wurde aus seinem vollständigen Massenspektrum, das vom Ioneneinfangdetektor permanent aufgezeichnet wurde, ein bestimmtes, selektives Fragment mit seinem Masse-zu-Ladungs-Verhältnisses ( $m/z$ -Verhältnis; siehe Tabelle 3) ausgewählt. Die Kalibrierung erfolgte dann über das Verhältnis der Peakfläche dieses Fragments zur Peakfläche des internen Standards 2-Octanol.

Wie aus Tabelle 5 ersichtlich ist, verhalten sich im kalibrierten Konzentrationsbereich, der 1,7 bis 2,7 Größenordnungen umfasst, alle Substanzen, abgesehen von Syringaaldehyd, linear ( $R^2 > 0.98$ ).

Bei den Substanzen 4-Ethylguaiacol und Acetovanillon wurde ein Blindwert, der auch im verwendeten italienischen Weißwein vorhanden war, berücksichtigt.

Tabelle 5: Kalibrierdaten der 21 ausgewählten Substanzen

Substanz	Bereich µg/l	Anzahl Kalibrierpunkte	Krümmung	Steigung	Achsenabschnitt	Korrelation R <sup>2</sup>
Furfural	20,0 - 5008,7	8	-	0,0535	0,0163	0,9861
5-Methylfurfural	20,0 - 1002,5	6	-	0,2446	0,0309	0,9928
Guaiacol	1,0 - 50,8	6	-	0,4773	0,0005	0,9974
4-Methylguaiacol	1,0 - 48,6	6	-	0,3557	0,0024	0,9910
4-Ethylguaiacol	3,0 - 149,9	6	-	0,9609	0,0003	0,9922
E-Whiskylacton	13,9 - 693,7	6	-	0,4795	0,0425	0,9940
5-Acetoxyethyl-2-furaldehyd	1,0 - 49,4	6	-	0,2570	0,0008	0,9952
4-Vinylguaiacol	4,0 - 501,8	8	-	0,1543	-0,0002	0,9968
Z-Whiskylacton	12,2 - 607,6	6	-	0,4138	0,0313	0,9937
2,6-Dimethoxyphenol	4,0 - 200,5	6	-	0,4936	-0,0013	0,9974
Eugenol	4,0 - 199,9	6	-	0,4171	0,0026	0,9972
4-Propylguaiacol	1,0 - 50,8	6	-	1,1464	0,0011	0,9957
Vanillin	29,9 - 1496,9	6	-	0,4390	0,0181	0,9967
Isoeugenol	1,0 - 200,4	8	-	0,2559	0,0015	0,9995
Acetovanillon	4,0 - 199,2	6	-	0,9756	0,0105	0,9960
d-Decalacton	1,0 - 50,7	6	-	0,3602	0,0010	0,9950
Methylvanillat	1,0 - 50,0	6	-	0,8526	0,0021	0,9957
1-(4-Hydroxy-3-methylphenyl)-2-propanon	5,0 - 406,0	8	-	0,1946	-0,0047	0,9971
Ethylvanillat	5,0 - 500,6	8	-	0,7593	0,0077	0,9979
2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol	20,0 - 1001,8	6	-	0,4582	-0,0466	0,9975
Syringaaldehyd	30,1 - 16008,2	8	0,0031	0,0023	-0,0383	0,9999

Die Substanz 5-(Hydroxymethyl)-furfural konnte nicht kalibriert werden, da keine Referenz zur Verfügung stand. Um eine halbquantitative Bestimmung zu ermöglichen, wurden die Kalibrierdaten einer ähnlichen Substanz herangezogen. Für 5-(Hydroxymethyl)-furfural wurden die Steigung und der Achsenabschnitt von 5-Methylfurfural angenommen. Dies ermöglicht zwar keine genaue Quantifizierung, es ist aber wohl eine halbquantitative Abschätzung möglich.

Die Ermittlung der Nachweisgrenze (LOD) und Bestimmungsgrenze (LOQ) erfolgte anhand des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses (S/N) und der entsprechenden Konzentration beim zweitniedrigsten Kalibrierstandard (siehe Tabelle 6).

Tabelle 6: Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze über Signal-Rausch-Verhältnis

Substanz	Konzentration [µg/l]	S/N	LOD (S/N=3) [µg/l]	LOQ (S/N=9) [µg/l]
Furfural	99,8	2940	0,10	0,31
5-Methylfurfural	100,2	5840	0,05	0,15
Guaiacol	5,1	541	0,03	0,08
4-Methylguaiacol	4,8	30,7	0,47	1,41
4-Ethylguaiacol	105,3	11000	0,03	0,09
E-Whiskylacton	69,4	992	0,21	0,63
5-Acetoxyethyl-2-furaldehyd	4,9	163	0,09	0,27
4-Vinylguaiacol	20,0	315	0,19	0,57
Z-Whiskylacton	60,8	1220	0,15	0,45
2,6-Dimethoxyphenol	20,0	1140	0,05	0,16
Eugenol	20,0	596	0,10	0,30
4-Propylguaiacol	11,4	978	0,03	0,10
Vanillin	149,7	23800	0,02	0,06
Isoeugenol	5,0	186	0,08	0,24
Acetovanillon	49,8	3380	0,04	0,13
d-Decalacton	8,1	104	0,23	0,70
Methylvanillat	9,4	142	0,20	0,60
1-(4-Hydroxy-3-methylphenyl)-2-propanon	30,2	239	0,38	1,14
Ethylvanillat	24,9	321	0,23	0,70
2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol	122,4	12300	0,03	0,09
Syringaaldehyd	300,7	15,8	57,1	171,3

## 4.7 Wiederholbarkeit

Um die Wiederholbarkeit der Methode zu testen, wurde je ein Weiß- und Rotwein (Barriqueweine aus Punkt 3.2) mit einer Standardlösung versetzt. Die Analyse, die auch die Festphasenextraktion mit einschloss, wurde fünfmal wiederholt. Wie aus Tabelle 7 ersichtlich ist, liefert die komplette Methode für fast alle Substanzen eine relative Standardabweichung (RSD %) der ermittelten Konzentrationen von weniger als 10%. Für 4-Methylguaiacol konnte aufgrund einer Störung durch die Matrix die Wiederholbarkeit im ausgewählten Weißwein nicht bestimmt werden.

Tabelle 7: Wiederholbarkeit (RSD %) in Weißwein und Rotwein (n=5)

Substanz	Konzentration µg/l	RSD %	
		Weißwein	Rotwein
Furfural	99,8	10,6%	1,0%
5-Methylfurfural	100,2	1,4%	2,4%
Guaiacol	5,1	2,3%	2,2%
4-Methylguaiacol	4,9	/	7,0%
5-(Hydroxymethyl)-furfural	0,0	3,0%	5,9%
4-Ethylguaiacol	15,0	1,8%	3,6%
E-Whiskylacton	69,4	6,7%	4,1%
5-Acetoxymethyl-2-furaldehyd	4,9	4,9%	3,6%
4-Vinylguaiacol	20,0	7,1%	4,8%
Z-Whiskylacton	60,8	4,0%	5,0%
2,6-Dimethoxyphenol	20,0	3,4%	3,7%
Eugenol	20,0	3,4%	3,9%
4-Propylguaiacol	5,1	3,0%	5,1%
Vanillin	149,7	4,9%	6,0%
Isoeugenol	5,0	6,9%	10,1%
Acetovanillon	19,9	5,2%	11,1%
d-Decalacton	5,1	4,8%	4,5%
Methylvanillat	5,0	9,3%	10,6%
1-(4-Hydroxy-3-methylphenyl)-2-propanon	25,0	4,9%	3,9%
Ethylvanillat	24,9	5,7%	16,3%
2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol	100,2	2,8%	3,9%
Syringaaldehyd	150,3	12,4%	6,1%

## 4.8 Wiederfindung

Zur Bestimmung der Wiederfindung wurde in je einem Weiß- und Rotwein, die im Barriquefass gelagert waren, eine bekannte Menge an Standard mit den Aromastoffen zugesetzt. Dabei orientierte man sich an Konzentrationen, die natürlicherweise zu erwarten sind [Arapitsas 2004], [Jarauta 2005]. Jede Probe wurde zweimal auf die Gehalte der ausgewählten Substanzen untersucht. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 8 und 9 wiedergegeben.

Wie man den beiden Tabellen entnehmen kann, zeigt sich ein Einfluss der Konzentration auf die Wiederfindung (siehe Furfural, 5-Methylfurfural und 4-Methylguaiacol). Der Einfluss der Matrix ist gering, wie beispielsweise die Werte für Vanillin, Guaiacol und 1-(4-Hydroxy-3-methylphenyl)-2-propanon zeigen.

Tabelle 8: Wiederfindung in Weißwein

Substanz	enthalten [µg/l]	addiert [µg/l]	bestimmt [µg/l]	WDF %
Furfural	0,0	1743,8	935,3	54%
5-Methylfurfural	0,0	220,3	162,8	74%
Guaiacol	0,7	5,1	5,4	93%
4-Methylguaiacol	0,0	30,4	19,8	65%
4-Ethylguaiacol	0,0	15,0	11,2	75%
E-Whiskylacton	13,1	69,4	81,3	99%
5-Acetoxymethyl-2-furaldehyd	0,0	4,9	4,0	82%
4-Vinylguaiacol	314,0	204,0	473,5	91%
Z-Whiskylacton	25,3	60,8	85,4	99%
2,6-Dimethoxyphenol	1,5	20,0	17,6	82%
Eugenol	5,8	20,0	23,1	90%
4-Propylguaiacol	0,0	30,5	21,5	70%
Vanillin	5,1	149,7	142,9	92%
Isoeugenol	0,0	5,0	1,9	38%
Acetovanillon	6,4	19,9	23,5	89%
d-Decalacton	3,2	5,1	8,4	101%
Methylvanillat	8,4	5,0	13,4	100%
1-(4-Hydroxy-3-methylphenyl)-2-propanon	7,9	25,0	27,9	85%
Ethylvanillat	3,3	24,9	17,7	63%
2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol	21,7	100,2	89,9	74%
Syringaaldehyd	657,6	4354,6	5691,4	114%

Tabelle 9: Wiederfindung in Rotwein

Substanz	enthalten [µg/l]	addiert [µg/l]	bestimmt [µg/l]	WDF %
Furfural	75,6	99,8	165,5	94%
5-Methylfurfural	0,9	100,2	85,1	84%
Guaiacol	4,8	5,1	9,5	96%
4-Methylguaiacol	0,0	4,9	4,9	100%
4-Ethylguaiacol	0,6	15,0	12,2	78%
E-Whiskylacton	0,0	69,4	69,5	100%
5-Acetoxymethyl-2-furaldehyd	0,0	4,9	4,9	100%
4-Vinylguaiacol	0,0	204,0	172,1	84%
Z-Whiskylacton	37,3	60,8	101,5	103%
2,6-Dimethoxyphenol	11,2	20,0	31,3	100%
Eugenol	6,6	20,0	25,0	94%
4-Propylguaiacol	0,0	30,5	22,8	75%
Vanillin	72,3	149,7	222,3	100%
Isoeugenol	0,0	5,0	2,9	58%
Acetovanillon	47,0	19,9	70,2	105%
d-Decalacton	1,0	5,0	5,3	88%
Methylvanillat	14,5	5,0	21,4	110%
1-(4-Hydroxy-3-methylphenyl)-2-propanon	10,3	25,0	30,6	87%
Ethylvanillat	11,4	88,6	178,4	178%
2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol	25,1	100,2	91,7	73%
Syringaaldehyd	790,2	4354,6	5753,0	112%

## 5. Ergebnisse und Diskussion

### 5.1 Einfluss von Toastung, Chipsgröße und Kontaktzeit auf das Aromaprofil

Um die Einflüsse von Toastung, Größe und Kontaktzeit auf das Aromaprofil der JRS-Chips zu testen, wurde ein vollständiger Versuchsplan aufgestellt. Die angesprochenen Faktoren wurden dabei auf die folgenden Stufen eingestellt:

- Kontaktzeit: 3, 7, 14, 28 und 42 Tage; entspricht Faktor A; Kodierung 3, 7, 14, 28 bzw. 42 im Versuchskürzel
- Toastung: medium und heavy; entspricht Faktor B; Kodierung M bzw. H im Versuchskürzel
- Größe: klein und groß; entspricht Faktor C; Kodierung 4 bzw. 8 im Versuchskürzel

Dazu wurden je 10g der vier Chipsvarianten zu einem Liter Residenzschoppen (siehe 3.2) gegeben. Die Lagerung erfolgte liegend bei 22-24°C. Die Ansätze wurden zunächst täglich und nach Ablauf der ersten drei Tage dreimal wöchentlich über Kopf geschüttelt. Nach Ablauf der Kontaktzeit wurden die Chips mittels Filtration abgetrennt und das Filtrat mittels SPE aufgearbeitet und das Eluat injiziert.

Es ergab sich folgender vollständiger Versuchsplan (siehe Tabelle 10).

Tabelle 10: Versuchsplan mit allen variierten Faktoren

<b>Versuch</b>	<b>Kontaktzeit (Faktor A)</b>	<b>Toastung (Faktor B)</b>	<b>Größe (Faktor C)</b>
WW_000	/	/	/
WW_4M03	3	medium	klein
WW_4M07	7	medium	klein
WW_4M14	14	medium	klein
WW_4M28	28	medium	klein
WW_4M42	42	medium	klein
WW_4H03	3	heavy	klein
WW_4H07	7	heavy	klein
WW_4H14	14	heavy	klein
WW_4H28	28	heavy	klein
WW_4H42	42	heavy	klein
WW_8M03	3	medium	groß
WW_8M07	7	medium	groß
WW_8M14	14	medium	groß
WW_8M28	28	medium	groß
WW_8M42	42	medium	groß
WW_8H03	3	heavy	groß
WW_8H07	7	heavy	groß
WW_8H14	14	heavy	groß
WW_8H28	28	heavy	groß
WW_8H42	42	heavy	groß

WW\_000 ist der unbehandelte Residenzschoppen, der als Vergleichswert herangezogen wurde. Die Ergebnisse der einzelnen Versuche befinden sich im Anhang.

Der Versuchsplan wurde mit Hilfe des Programms „The Unscrambler®“ erstellt, mit dem auch die Auswertung erfolgte.

Tabelle 11: Mittelwerte, Standardabweichungen und relative Standardabweichungen (RSD %) der einzelnen Substanzen der 20 Versuche aus Tabelle 10 (ohne WW\_000)

<b>Substanz</b>	<b>Mittelwert [µg/l]</b>	<b>Standard- abweichung</b>	<b>RSD %</b>
Furfural	1696,8	522,9	30,8%
5-Methylfurfural	199,5	20,0	10,0%
Guaiacol	10,4	6,3	60,2%
4-Methylguaiacol	7,7	8,1	105,3%
5-(Hydroxymethyl)-furfural	415,7	103,6	24,9%
4-Ethylguaiacol	4,2	1,7	39,7%
E-Whiskylacton	6,3	7,3	116,0%
5-Acetoxyethyl-2-furaldehyd	27,2	10,2	37,7%
4-Vinylguaiacol	209,4	59,0	28,2%
Z-Whiskylacton	11,4	6,1	53,4%
2,6-Dimethoxyphenol	35,3	26,2	74,3%
Eugenol	12,6	4,5	35,7%
4-Propylguaiacol	0,4	1,2	265,5%
Vanillin	669,0	225,9	33,8%
Isoeugenol	75,6	42,5	56,1%
Acetovanillon	55,6	19,4	35,0%
d-Decalacton	2,7	1,2	44,0%
Methylvanillat	22,0	2,1	9,8%
1-(4-Hydroxy-3-methylphenyl)-2-propanon	91,7	60,6	66,1%
Ethylvanillat	85,0	35,9	42,2%
2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol	52,2	20,5	39,2%
Syringaaldehyd	4349,7	1533,7	35,3%

In Tabelle 11 sind die Mittelwerte sowie die Standardabweichungen und relative Standardabweichungen der einzelnen Substanzen der 20 Versuche aus Tabelle 10 (ohne WW\_000) aufgeführt. Hieraus ist bereits erkennbar, dass die unterschiedlichen Bedingungen zu einer starken Variation der Konzentrationen führen. Auch ist erkennbar, dass die verschiedenen Aromastoffe in unterschiedlichen Größenordnungen auftreten. Guaiacol, 4-Methylguaiacol, 4-Ethylguaiacol, 5-Acetoxyethyl-2-furaldehyd, E- und Z-Whiskylacton, 2,6-Dimethoxyphenol, Eugenol, 4-Propylguaiacol, Isoeugenol, Acetovanillon, δ-Decalacton, Methylvanillat, 1-(4-Hydroxy-3-methylphenyl)-2-propanon, Ethylvanillat und 2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol liefern Konzentration kleiner 100µg/l, während Furfural, 5-Methylfurfural, 5-(Hydroxymethyl)-furfural, 4-Vinylguaiacol, Vanillin und Syringaaldehyd Konzentrationen von zum Teil über 1000µg/l liefern.

In Abbildung 22 ist als Beispiel für den typischen Konzentrationsverlauf in der Abhängigkeit der Einwirkzeit der Substanzen 5-Methylfurfural, 5-Acetoxyethyl-2-furaldehyd, Guaiacol und Syringaaldehyd das Migrationsverhalten des 5-Acetoxyethyl-2-furaldehyd gezeigt. Es lassen sich folgende Informationen aus dem Diagramm entnehmen:

- Nach den ersten drei Tagen steigt die Konzentration nur noch schwach an und nähert sich einem Maximum
- „Heavy toasted“ Chips liefern höhere Konzentrationen als „medium toasted“ Chips
- Große Chips liefern höhere Konzentrationen als kleine Chips

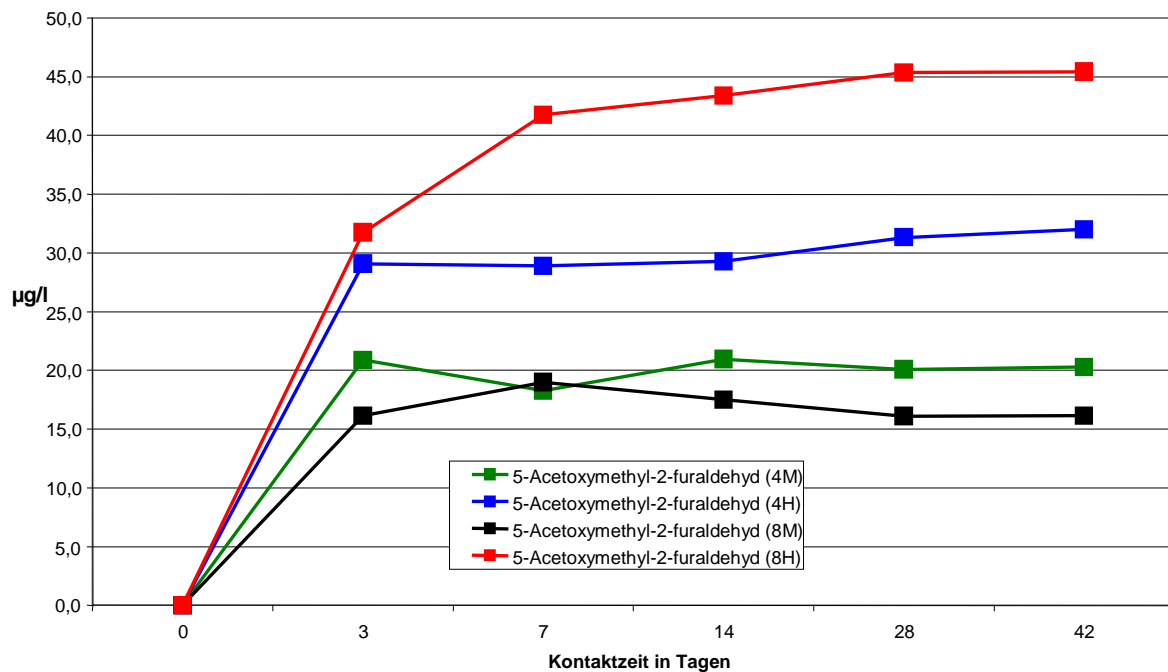


Abbildung 22: Migration des 5-Acetoxyethyl-2-furaldehyd; Konzentration in Abhängigkeit von der Kontaktzeit und der Chipsart



In Abbildung 23 ist als Beispiel für den typischen Konzentrationsverlauf in der Abhängigkeit der Einwirkzeit der Substanzen Furfural, 5-(Hydroxymethyl)-furfural, 4-Ethylguaiacol, 2,6-Dimethoxyphenol, Eugenol, Vanillin, Isoeugenol, Acetovanillon, 1-(4-Hydroxy-3-methylphenyl)-2-propanon, Ethylvanillat und 2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol das Migrationsverhalten des Acetovanillon gezeigt. Es lassen sich folgende Informationen aus dem Diagramm entnehmen:

- Die Konzentration steigt stetig an
- „Heavy toasted“ Chips liefern höhere Konzentrationen als „medium toasted“ Chips
- Große Chips liefern höhere Konzentrationen als kleine Chips

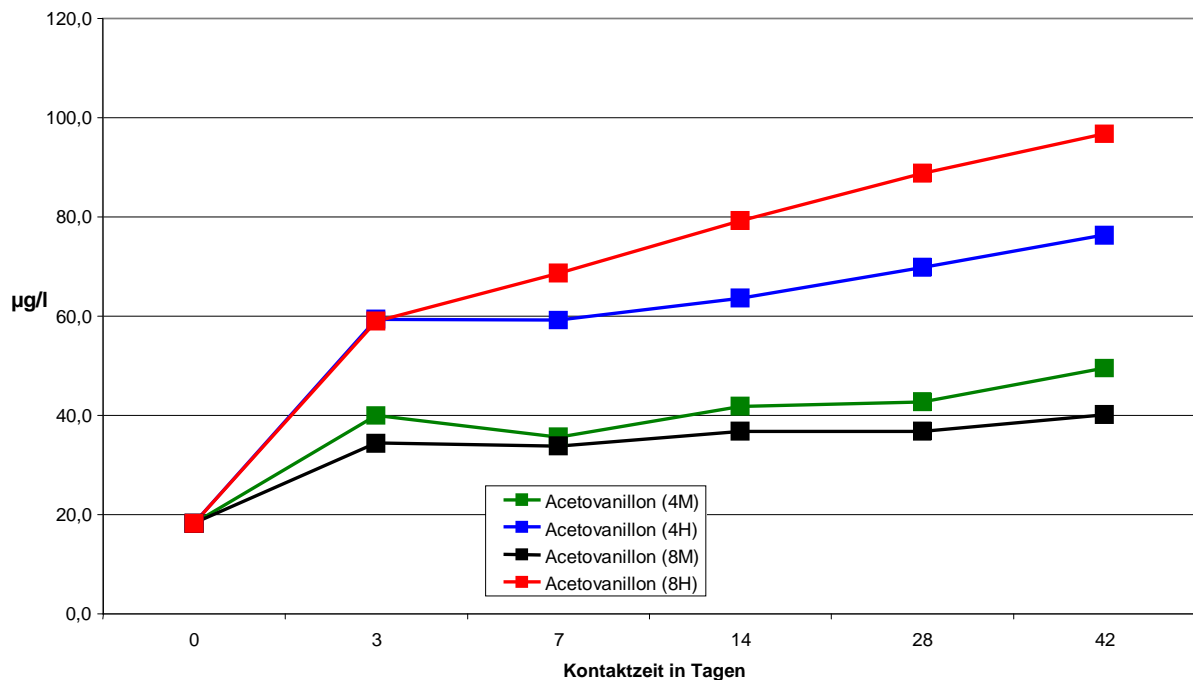


Abbildung 23: Migrationsverhalten des Acetovanillon; Konzentration in Abhängigkeit von der Kontaktzeit und der Chipsart

Die ANOVA lieferte für die genannten Faktoren und deren Wechselwirkungen die in Tabelle 12 wiedergegebenen p-Werte. Bei einem p-Wert kleiner als 0,05 geht man davon aus, dass der entsprechende Faktor einen signifikanten Einfluss hat. Die signifikanten Faktoren sind in Tabelle 12 gelb unterlegt.

Tabelle 12: p-Werte der einzelnen Faktoren bezüglich der Analyte

Substanz	Faktor A Kontaktzeit	Faktor B Toastung	Faktor C Größe	Faktor AB	Faktor AC	Faktor BC
Furfural	0,0064	0,0001	0,0017	0,1151	0,8731	0,0052
5-Methylfurfural	0,0856	0,0082	0,0352	0,2660	0,5249	0,3458
Guaiacol	0,1681	0,0000	0,0034	0,3060	0,6535	0,0013
4-Methylguaiacol	0,0069	0,0005	0,0048	0,0685	0,0434	0,0010
5-(Hydroxymethyl)-furfural	0,0003	0,0004	0,1297	0,4728	0,2151	0,0548
4-Ethylguaiacol	0,1627	0,0015	0,2045	0,7786	0,7550	0,2030
E-Whiskylacton	0,1837	0,8768	0,8643	0,7357	0,7055	0,0440
5-Acetoxy-methyl-2-furaldehyd	0,2741	0,0001	0,0165	0,2293	0,3184	0,0022
4-Vinylguaiacol	0,0000	0,0002	0,0348	0,0168	0,0231	0,0004
Z-Whiskylacton	0,0066	0,0036	0,0499	0,3583	0,4112	0,0141
2,6-Dimethoxyphenol	0,0839	0,0000	0,0034	0,1902	0,5527	0,0016
Eugenol	0,0021	0,0001	0,0704	0,0383	0,8363	0,8250
4-Propylguaiacol	/	/	/	/	/	/
Vanillin	0,0131	0,0001	0,0640	0,1231	0,6566	0,0660
Isoeugenol	0,0006	0,0000	0,0050	0,0037	0,5954	0,3773
Acetovanillon	0,0315	0,0001	0,1787	0,1956	0,6956	0,0150
d-Decalacton	0,0117	0,5014	0,1131	0,5426	0,4568	0,6883
Methylvanillat	0,0016	0,0012	0,0714	0,4930	0,6758	0,4961
1-(4-Hydroxy-3-methylphenyl)-2-propanon	0,0212	0,0000	0,0123	0,1050	0,6688	0,0048
Ethylvanillat	0,0084	0,0002	0,7313	0,0882	0,7213	0,0376
2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol	0,0101	0,0001	0,1600	0,0345	0,5912	0,0408
Syringaldehyd	0,0370	0,0000	0,0333	0,6200	0,5595	0,0024

4-Propylguaiacol wurde in den Ansätzen nicht gefunden. Aufgrund dessen erfolgt hier keine weitere Auswertung.

Die Substanzen 4-Vinylguaiacol,  $\delta$ -Decalacton und Methylvanillat, die bekanntermaßen nicht aus dem Holz bzw. getoastetem Holz stammen, waren neben anderen Aromastoffen bereits im unbehandelten Residenzschoppen vorhanden. Da sich diese drei Substanzen in ihrem Verhalten von den übrigen bereits im unbehandelten Residenzschoppen vorhandenen Substanzen deutlich unterscheiden haben, werden sie im Folgenden gesondert betrachtet.

Bei 4-Vinylguaiacol erfolgte über den gesamten Zeitraum eine stetige Abnahme (Abbildung 24), deren Betrag sowohl von der Toastung als auch von der Größe der verwendeten Holzchips abhing. Dies wird durch die Auswertung bestätigt. Hier zeigte sich, dass alle Faktoren und auch alle Wechselwirkungen einen signifikanten Einfluss auf die Erniedrigung der Konzentration dieser Komponente haben.

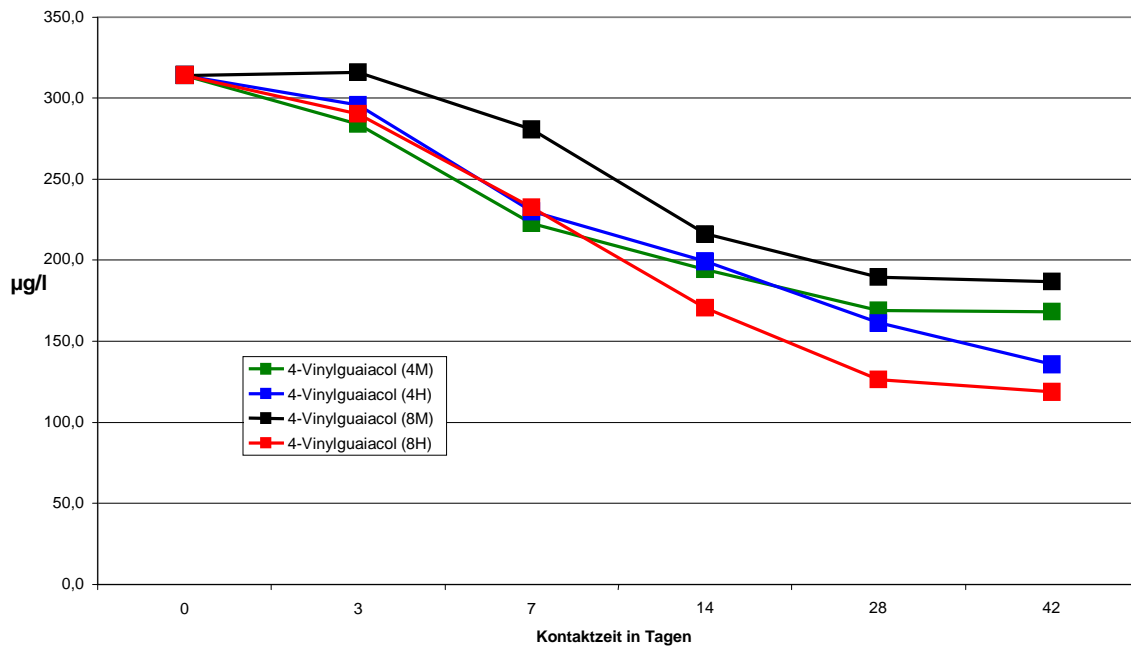


Abbildung 24: Konzentrationsänderung des 4-Vinylguaiacol; Konzentration in Abhängigkeit von der Kontaktzeit und der Chipsart

4-Vinylguaiacol wird vor allem durch Milchsäurebakterien, Brettanomyces-Hefen aber auch bestimmte Saccharomyces-Hefen durch Decarboxylierung von phenolischen Zimtsäuren (Ferulasäure und p-Coumarsäure) gebildet; 4-Vinylguaiacol ist in höheren Konzentrationen (> 500 µg/l) für den phenolischen Charakter von Rotweinen verantwortlich [Lambrechts 2000]. Es wurde nicht geprüft, warum die Konzentration von 4-Vinylguaiacol abnimmt. Um zu überprüfen, ob es zum Beispiel von den Chips absorbiert wird oder durch andere Reaktionen abgebaut wird, müssen weitere Versuche durchgeführt werden.

Die Konzentration der Komponente Methylvanillat nahm während der ersten sieben Tage ab (Abbildung 25), dabei zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den medium und heavy getoasteten Chips; anschließend nahm die Konzentration bei allen Chipsvarianten ungefähr wieder zum Ausgangswert zu.

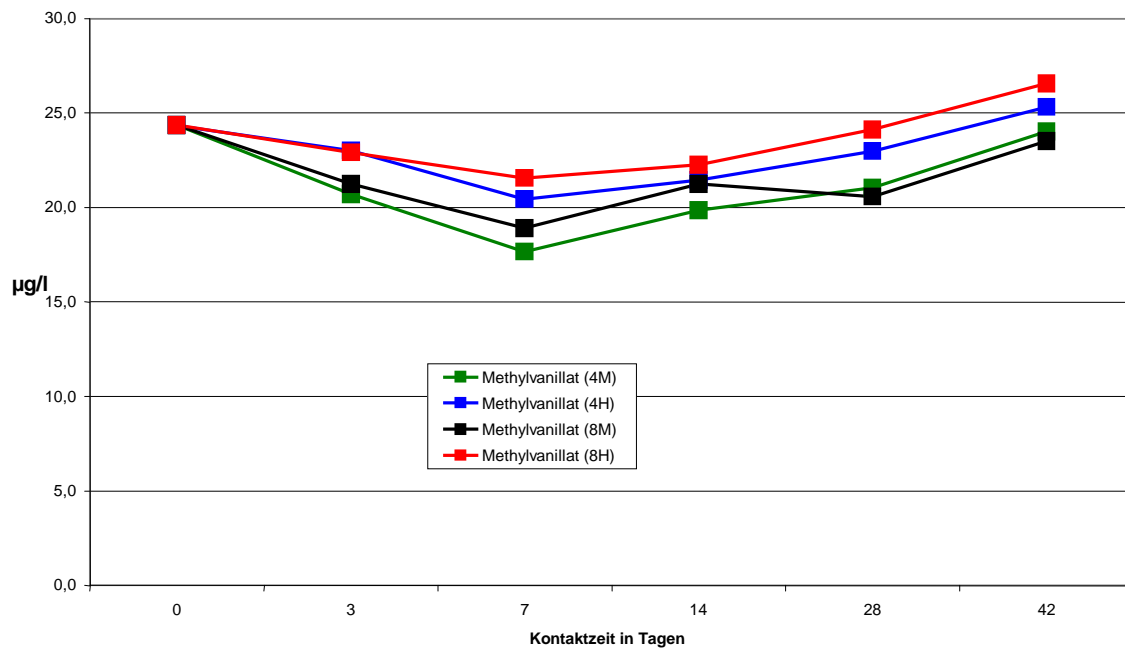


Abbildung 25: Migrationsverhalten des Methylvanillat; Konzentration in Abhängigkeit von der Kontaktzeit und der Chipsart

Bei  $\delta$ -Decalacton konnten keine signifikanten Effekte festgestellt werden (Ausnahme Kontaktzeit). Die Konzentration zeigte keinen Trend. Sie variierte scheinbar unabhängig von äußeren Einflüssen zwischen Werten von 0,6 und 5,2 $\mu$ g/l. Dies bestätigt den genuinen Charakter als Weininhaltsstoff.

Bei einer großen Gruppe von Substanzen – Furfural, 4-Methylguaiacol, 5-(Hydroxymethyl)-furfural, Z-Whiskylacton, Eugenol, Vanillin, Isoeugenol, Acetovanillon, 1-(4-Hydroxy-3-methylphenyl)-2-propanon, Ethylvanillat, 2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol und Syringaaldehyd – wurde ein signifikanter Einfluss durch die Kontaktzeit (Faktor A) auf die jeweilige Konzentration festgestellt (Abbildung 26). Die deutlichste Steigerung konnte bei 4-Methylguaiacol erzielt werden.

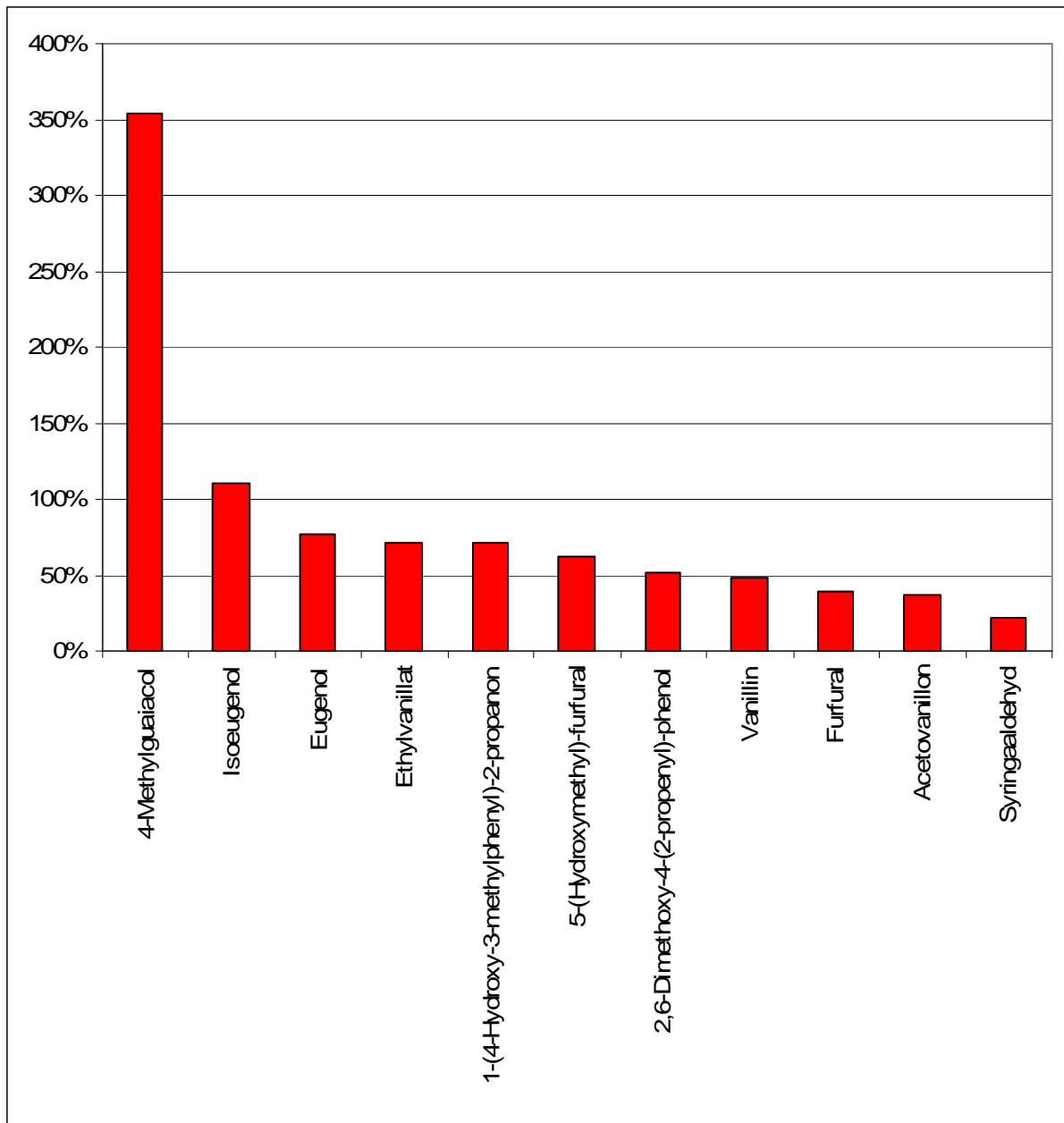


Abbildung 26: Einfluss der Kontaktzeit der Chips auf die Konzentration der Komponenten

Bei allen Substanzen – mit Ausnahme von E-Whiskylacton – hatte die Toastung (Faktor B) der Holzchips einen signifikanten Einfluss auf die Konzentration der jeweiligen Komponente. Bei den Komponenten 5-(Hydroxymethyl)-furfural und Z-Whiskylacton hatte die stärkere Toastung eine Abnahme der Konzentration zur Folge. So erniedrigte sich bei 5-(Hydroxymethyl)-furfural die Konzentration von 464 auf 368µg/l und bei Z-Whiskylacton von 14,4 auf 8,5µg/l durch den Wechsel von „medium toasted“ zu „heavy toasted“. Bei den übrigen Substanzen konnte durch den höheren Grad der Toastung die Konzentration gesteigert werden. Die Steigerung betrug hier je nach Komponente zwischen 12,2% (5-Methylfurfural) und 356% (2,6-Dimethoxyphenol). Dies zeigt deutlich den Einfluss der Toastung der Eichenholzchips auf ihr Aromapotential (Abbildung 27).

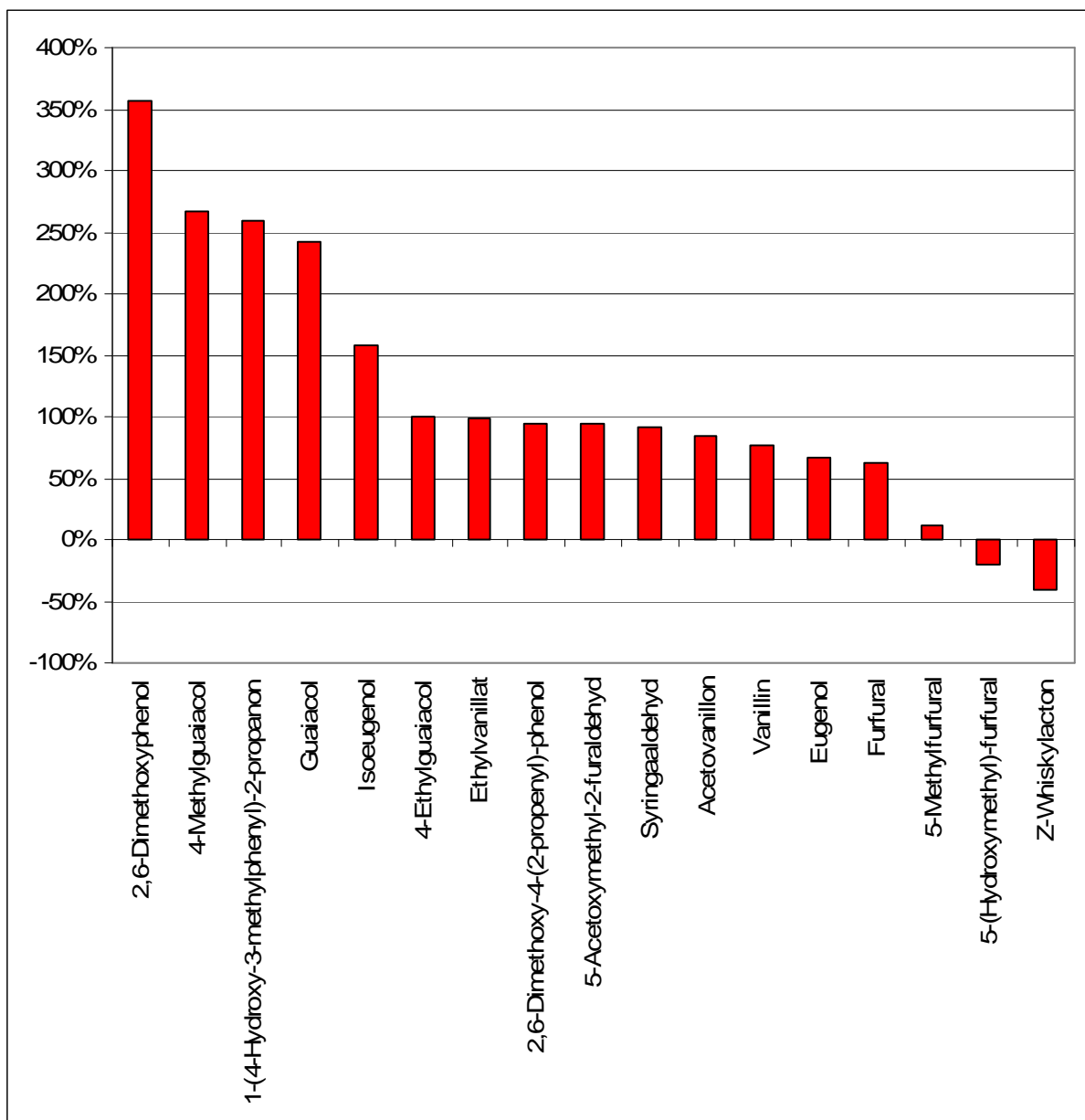


Abbildung 27: Einfluss der Toastung auf die Konzentration der Komponenten

Eine signifikante Abhängigkeit der Konzentration von der Chipsgröße (Faktor C) konnte bei folgenden Komponenten festgestellt werden: Furfural, 5-Methylfurfural, Guaiacol, 4-Methylguaiacol, 5-Acetoxymethyl-furfural, Z-Whiskylacton, 2,6-Di-methoxyphenol, Isoeugenol, 1-(4-Hydroxy-3-methylphenyl)-2-propanon und Syringaaldehyd. Während die Veränderung der Chipsgröße von „klein“ nach „groß“ bei Z-Whiskylacton und Isoeugenol eine Erniedrigung der Konzentrationen zur Folge hatte, nahm sie bei den übrigen genannten Substanzen zu (Abbildung 28).

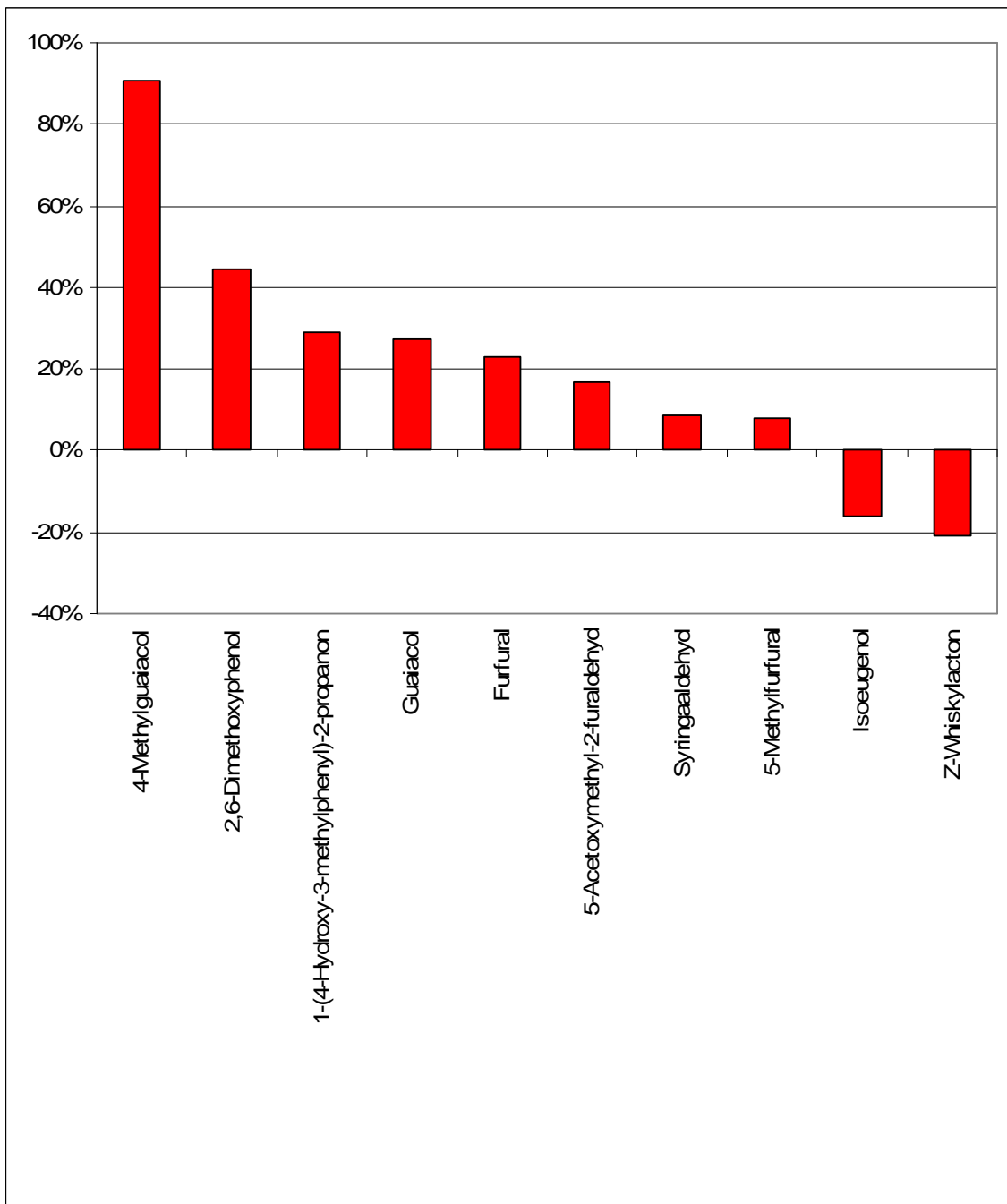


Abbildung 28: Einfluss der Größe auf die Konzentration der Komponenten

Bei den Substanzen Eugenol, Isoeugenol und 4-Allyl-2,6-dimethoxyphenol wurde die signifikante Wechselwirkung Zeit-Toastung (AB) identifiziert. Die Konzentration dieser drei Substanzen nahm hier deutlich zu.

Eine signifikante Wechselwirkung Zeit-Größe (AC) konnte nur bei 4-Methylguaiacol festgestellt werden. Auch hier erhöhte sich die Konzentration.

Bei Furfural, Guaiacol, 4-Methylguaiacol, E-Whiskylacton, 5-Acetoxy-methyl-furfural, Z-Whiskylacton, 2,6-Dimethoxyphenol, Acetovanillon, 1-(4-Hydroxy-3-methylphenyl)-2-propanon, Ethylvanillat, 4-Allyl-2,6-dimethoxyphenol und Syringaaldehyd wurde die Wechselwirkung Toastung-Größe (BC) als signifikant bestimmt. Hier erhöhten sich die entsprechenden Konzentrationen – vor allem die von E-Whiskylacton und 4-Methylguaiacol – deutlich (Abbildung 29).

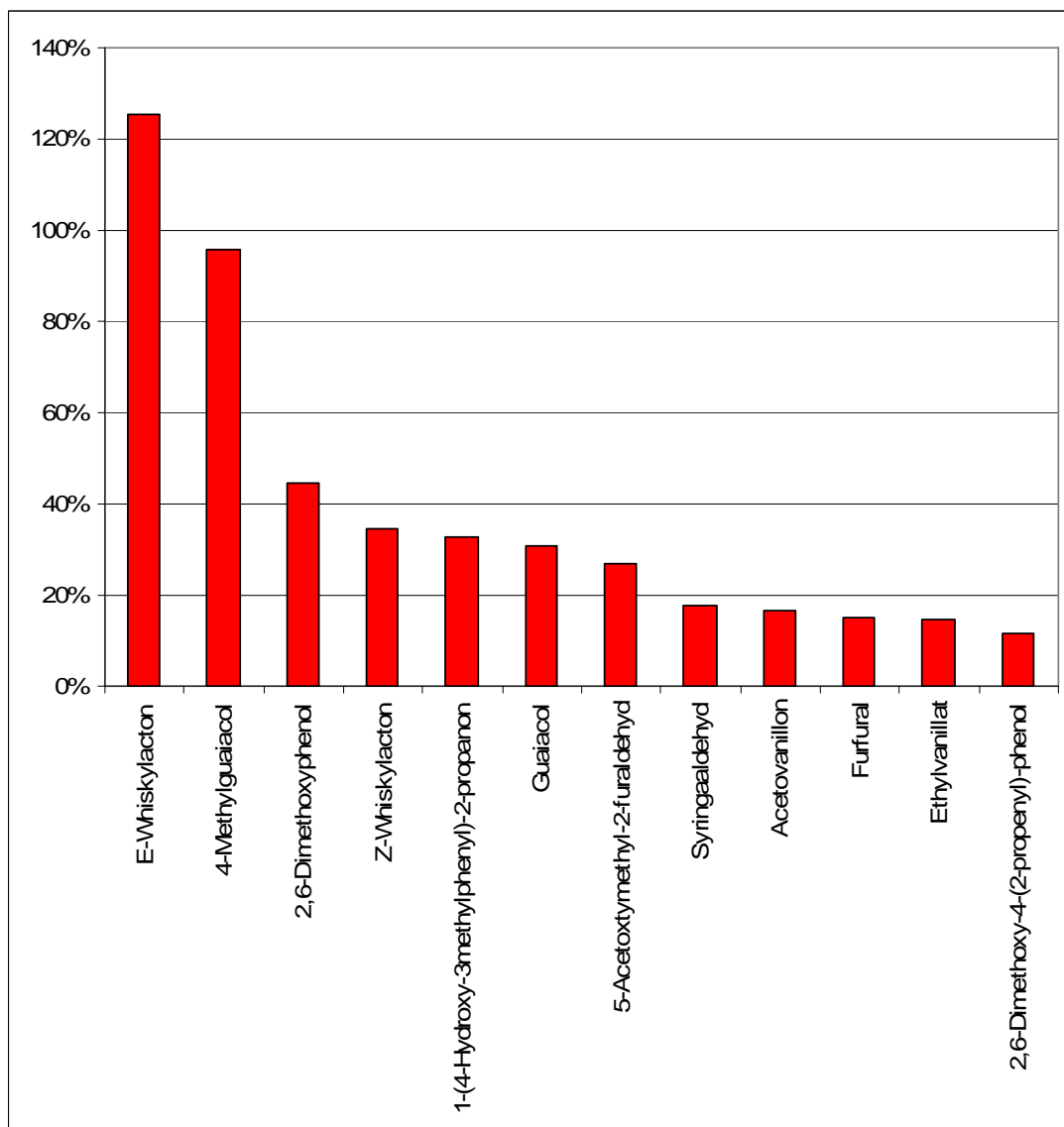


Abbildung 29: Einfluss der Wechselwirkung Toastung-Größe auf die Konzentration der Komponenten



Wie man sieht, gibt es signifikante Einflüsse auf die Konzentration der meisten Substanzen durch Kontaktzeit, Toastung und Größe sowie durch die Wechselwirkungen Zeit-Toastung und Toastung-Größe.

Um den Einfluss dieser Faktoren zusammenzufassen, wurde mit diesen Daten eine Hauptkomponentenanalyse (PCA) durchgeführt. Zur Standardisierung der Daten der einzelnen Variablen wurde die entsprechende Varianz mit dem Faktor  $\frac{1}{\text{Standardabweichung} + 10}$  multipliziert. Dies hat zur Folge, dass die Varianzen der einzelnen

Variablen unabhängig von der Größenordnung den gleichen Einfluss auf die Gesamtvarianz der Daten haben. Durch die Addition der Zahl „10“ – in dieser Größenordnung liegt die Messunsicherheit – wird verhindert, dass statistische Unsicherheiten die gleiche Gewichtung bekommen wie wirkliche Effekte.

Es wurden folgende Hauptkomponentenanalysen berechnet:

- Alle Versuche mit „medium toasted“ Chips
- Alle Versuche mit „heavy toasted“ Chips
- Alle Versuche mit kleinen Chips
- Alle Versuche mit großen Chips
- Alle Versuche mit Chips

Es zeigte sich bei allen PCAs, dass es durch die Variablen zu einer Auftrennung, das heißt Gruppierung, zwischen den verschiedenen Varianten, zum Beispiel groß-klein, kommt.

Es wurden für alle PCAs zwei Hauptkomponenten verwendet. Diese erklärten in allen Fällen 88 bis 95% der Gesamtvarianz der Daten.

Die Score- und Loading-Plots der einzelnen PCAs sind in den Abbildungen 30 bis 37 dargestellt.

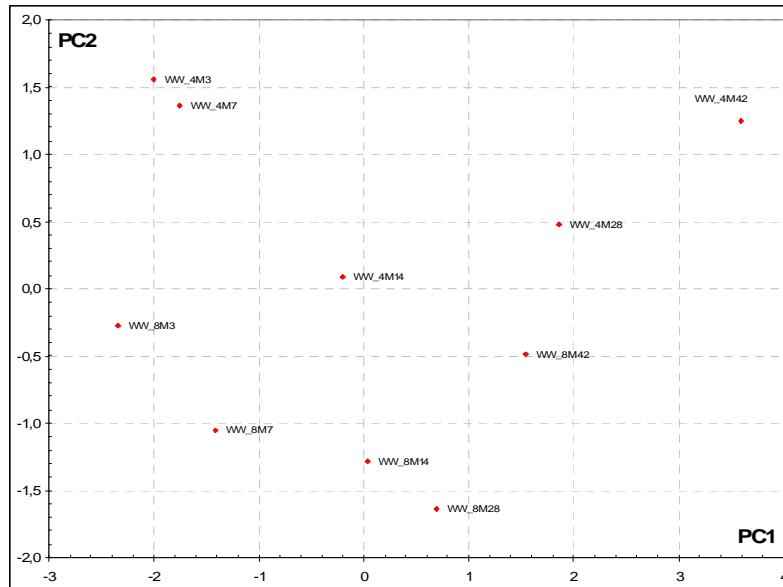


Abbildung 30: Score-Plot der PCA „Chipsversuche medium toasted“



Abbildung 31: Loading-Plot der PCA „Chipsversuche medium toasted“

Wie aus Abbildung 30 hervorgeht verhalten sich die Chips während der Kontaktzeit recht ähnlich. Die höheren Werte der kleinen Chips bezüglich PC2 sind wohl vor allem auf die höheren Konzentrationen bei E-Whiskylacton und Syringaldehyd (Abbildung 31) zurückzuführen. Der Trend innerhalb der Gruppen ist auf den Verlauf der Syringaldehyd-Konzentration zurückzuführen, die bei 14 Tagen (kleine Chips) bzw. 28 Tagen (große Chips) ein Minimum erreicht, ehe sie dann wieder deutlich zunimmt.

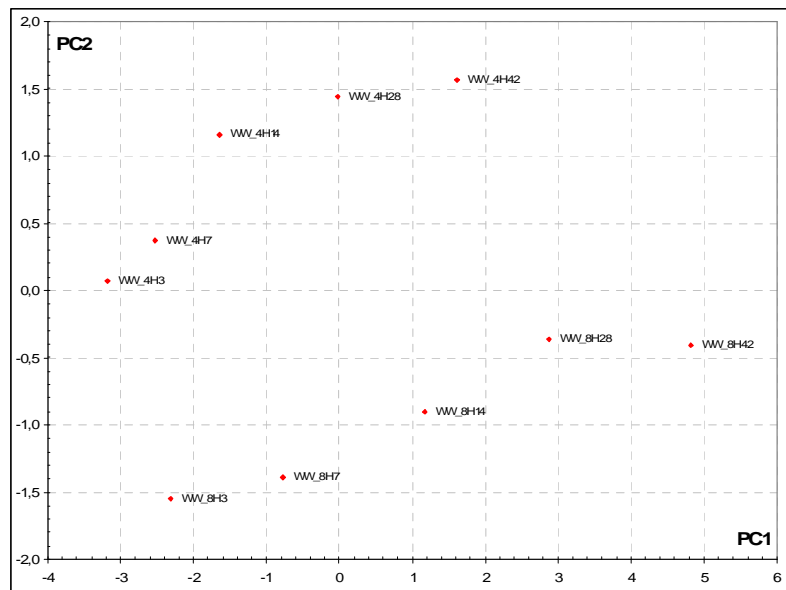


Abbildung 32: Score-Plot der PCA „Chipsversuche heavy toasted“

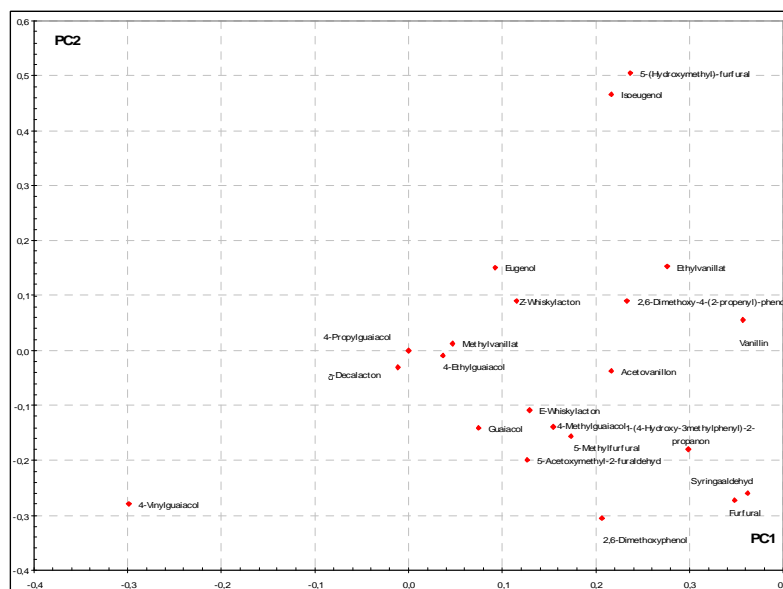


Abbildung 33: Loading-Plot der PCA „Chipsversuche heavy toasted“

Bei der PCA der „Chipsversuche heavy toasted“ zeigte sich ein ähnliches Bild: Es ist eine deutliche Trennung zwischen kleinen und großen Chips erkennbar. Zudem ist ersichtlich, dass sich bezüglich der Kontaktzeit beide Chipssorten ähnlich verhalten. Wie aus dem Loading-Plot (Abbildung 33) zu entnehmen ist, sind für die Auftrennung bezüglich der Größe, also PC2, vor allem die Gehalte an Furfural, Syringaldehyd und 2,6-Dimethoxyphenol einerseits und die Gehalte an 5-(Hydroxymethyl)-furfural und Isoeugenol andererseits verantwortlich. Die Auftrennung bezüglich der Kontaktzeit, also PC1, erfolgt vor allem durch die Zunahme an Vanillin und Ethylvanillat sowie durch die Abnahme an 4-Vinylguaiacol.

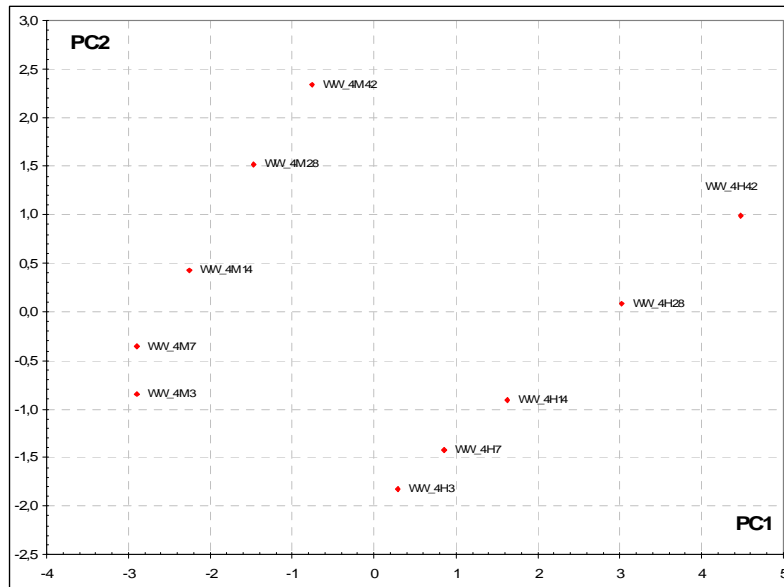


Abbildung 34: Score-Plot der PCA „Chipsversuche klein“

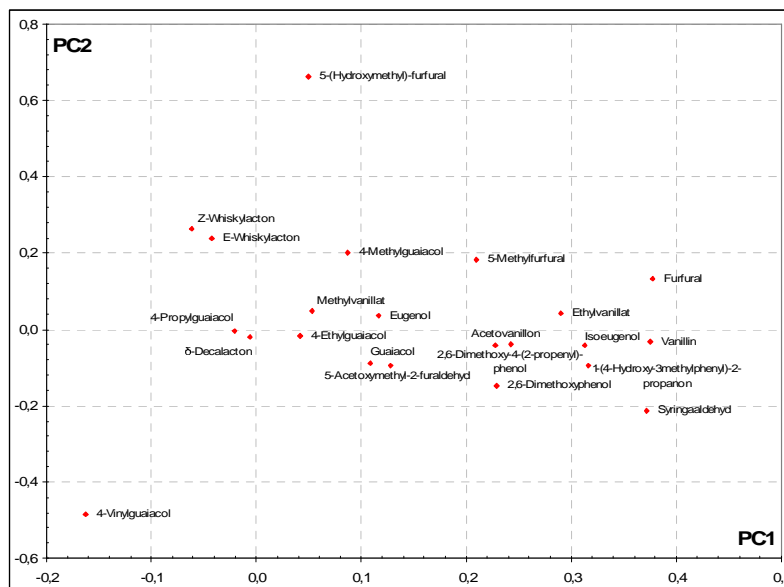


Abbildung 35: Loading-Plot der PCA „Chipsversuche klein“

Bei Betrachtung des Score-Plots (Abbildung 34) ist eine deutliche Trennung zwischen den medium und heavy toasted Chips zu erkennen. Auch hier zeigt sich ein ähnlicher Verlauf bezüglich der Kontaktzeit für beide Chipsvarianten.

Der Loading-Plot (Abbildung 35) lässt erkennen, dass für die Trennung der Toastungsstufen vor allem die Stoffe Furfural, Vanillin, Syringaaldehyd, Ethylvanillat, 2,6-Dimethoxyphenol, Isoeugenol, 1-(4-Hydroxy-3-methylphenyl)-2-propanon und Acetovanillon verantwortlich sind. Für den deutlichen Verlauf der Kontaktzeit sind vor allem die Substanzen 5-(Hydroxymethyl)-furfural sowie die beiden Isomere des Whiskylactons verantwortlich.

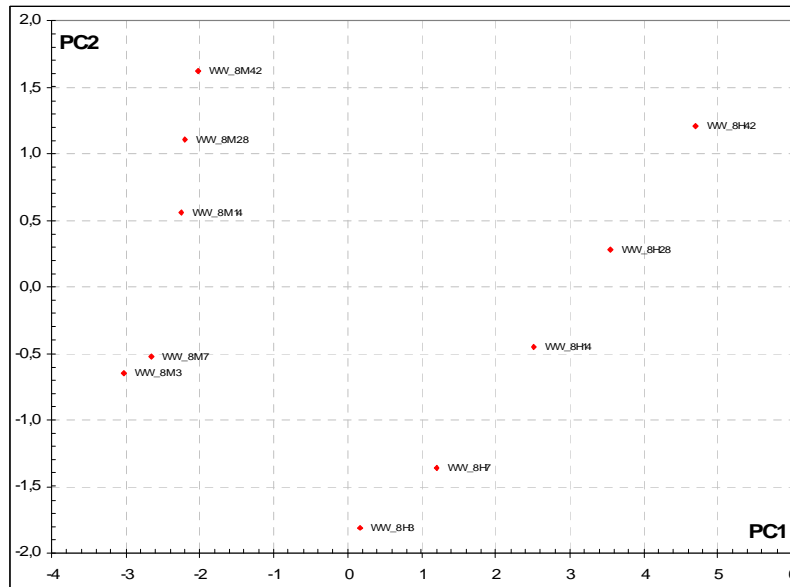


Abbildung 36: Score-Plot der PCA „Chipsversuche groß“

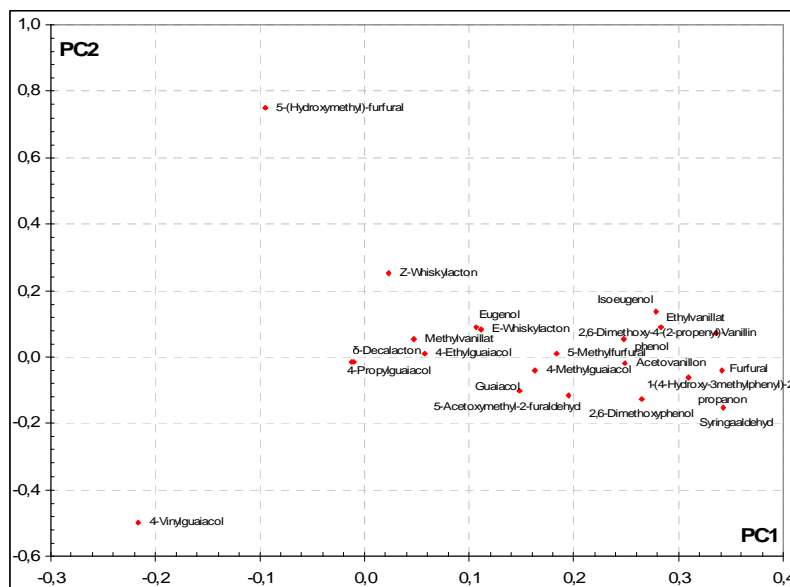


Abbildung 37: Loading-Plot der PCA „Chipsversuche groß“

Bei Betrachtung des Score-Plots (Abbildung 36) ist eine deutliche Trennung zwischen den medium und heavy toasted Chips zu erkennen. Es zeigt sich für beide Chipsvarianten ein ähnlicher Verlauf bezüglich der Kontaktzeit.

Der Loading-Plot (Abbildung 37) lässt erkennen, dass für die Trennung der Toastungsstufen vor allem die Stoffe Furfural, Vanillin, Syringaldehyd, Ethylvanillat, 2,6-Dimethoxyphenol, Isoeugenol und 1-(4-Hydroxy-3-methylphenyl)-2-propanon verantwortlich sind. Für den deutlichen Verlauf der Kontaktzeit sind vor allem die Substanzen 5-(Hydroxymethyl)-furfural sowie 4-Vinylguaicaol und Z-Whiskylacton verantwortlich

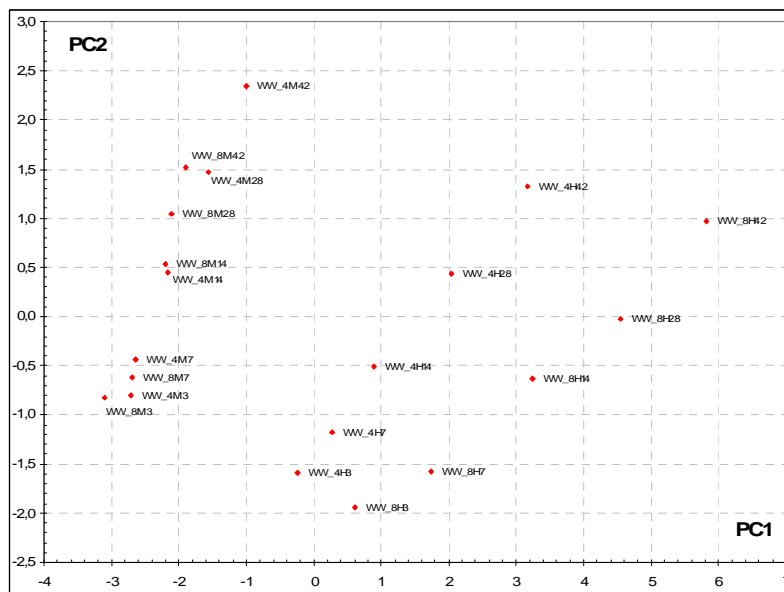


Abbildung 38: Score-Plot der PCA „Chips alle Ansätze“

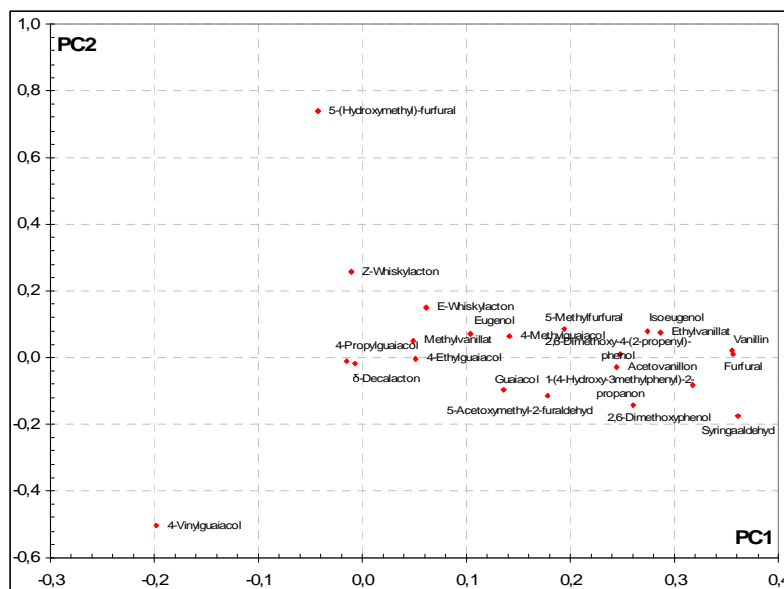


Abbildung 39: Loading-Plot der PCA „Chips alle Ansätze“

Der Score-Plot (Abbildung 38) zeigt für alle Chipsvarianten deutlich den Verlauf bezüglich der Kontaktzeit. Zudem sind die Toastungsstufen „medium“ und „heavy“ klar voneinander getrennt. Bei der Toastungsstufe „heavy“ ist zusätzlich eine Differenzierung bezüglich der Größe möglich.

Der Aufspaltung in Richtung der zweiten Hauptkomponente, PC2, also bezüglich der Kontaktzeit, ist vor allem auf die Gehalte an 5-(Hydroxymethyl)-furfural und Z-Whiskylacton zurückzuführen. Die Aufspaltung in Toastung und Größe der Chips beruht auf der ersten Hauptkomponente, PC1. Der Loading-Plot (Abbildung 39) zeigt, dass vor allem Vanillin,

Furfural, Syringaaldehyd, 1-(4-Hydroxy-3-methylphenyl)-2-propanon und Ethylvanillat auf diese Hauptkomponente laden.

Es ist also mit Hilfe der PCA möglich die hier verwendeten Eichenholzchips bezüglich ihrer Toastung und Größe zu differenzieren.

## **5.2 Einfluss des Zugabezeitpunkts – vor bzw. nach der Gärung**

Um den Einfluss des Zugabezeitpunkts der Eichenholzchips auf das Aromaprofil zu ermitteln wurde der unter 3.2 genannte Silvanermost verwendet.

Es wurden folgende Ansätze hergestellt:

- Vergärung von 5 Litern ohne Chips; nach Ende der Vergärung wurden zu je einem Liter Wein 10g JRS-Chips (klein medium toasted; klein heavy toasted; groß medium toasted; groß heavy toasted) gegeben
- Vergärung von 4 Litern mit 120g JRS-Chips, klein heavy toasted
- Vergärung von 4 Litern mit 120g JRS-Chips, groß heavy toasted

Das Ende der Vergärung wurde mittels Glucose-Teststäbchen bestimmt. Nach 16 Tagen war in allen drei Fällen der Test auf Glucose negativ. Die Ansätze wurden nach Beendigung der Vergärung geschwefelt. Die Ansätze, die mit Eichenholzchips vergärt wurden, blieben insgesamt 28 Tage mit den Chips in Kontakt. Der Ansatz, der ohne Eichenholzchips vergärt wurde, wurde nach der Vergärung abdekantiert und wie oben beschrieben mit JRS-Chips für einen Zeitraum von 28 Tagen gelagert. Die Chipsdosage entsprach 10g/l.

Nach Beendigung der Kontaktzeit wurden die Weine von den Chips getrennt, mittels SPE aufbereitet und in das GC-MS-System injiziert.

In Tabelle 13 sind die Konzentrationen der einzelnen Substanzen aufgeführt. Die Versuchskürzel enthalten folgende Informationen:

- SM: Silvanermost
- C: Chipszugabe vor der Vergärung
- 4 / 8: Chipsgröße; 4=klein, 8=groß
- M / H: Toastung; M=medium toasted, H=heavy toasted
- 000: keine Chipsbehandlung

Es zeigen sich hier deutliche Unterschiede zwischen den Varianten „Chipszugabe vor der Vergärung“ und „Chipszugabe nach der Vergärung“.

Tabelle 13: Konzentrationen von Aromastoffen in vergorenem Traubenmost der Rebsorte Silvaner bei Zusatz von Eichenholzchips vor Vergärung (SM\_C\_4H und SM\_C\_8H) und nach Vergärung, alle Angaben in µg/l

Substanz	SM_000	SM_4M28	SM_4H28	SM_8M28	SM_8H28	SM_C_4H	SM_C_8H
Furfural	n.n.	2582,2	3505,0	2734,3	4462,8	164,6	150,8
5-Methylfurfural	n.n.	295,0	290,7	313,3	333,3	n.n.	n.n.
Guaiaicol	0,3	6,7	18,4	5,2	25,3	26,4	36,3
4-Methylguaiaicol	n.n.	13,5	25,6	10,9	30,6	13,1	11,0
5-(Hydroxymethyl)-furfural	n.n.	828,4	675,6	679,0	578,3	53,2	68,4
4-Ethylguaiaicol	n.n.	4,4	7,0	2,7	9,3	5,6	6,6
E-Whiskylacton	n.n.	25,8	16,9	16,9	39,0	34,8	49,0
5-Acetoxy-methyl-2-furaldehyd	n.n.	44,9	62,2	33,8	92,8	n.n.	1,2
4-Vinylguaiaicol	42,3	17,1	16,4	17,4	12,9	n.n.	n.n.
Z-Whiskylacton	n.n.	44,6	18,7	27,7	29,4	45,7	62,9
2,6-Dimethoxyphenol	n.n.	19,7	63,3	14,1	109,7	1,6	n.n.
Eugenol	n.n.	11,4	21,9	10,4	21,5	8,2	4,2
4-Propylguaiaicol	37,9	10,2	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Vanillin	726,4	1472,5	1795,5	1529,8	1972,2	206,3	429,7
Isoeugenol	n.n.	38,9	103,2	31,1	91,3	n.n.	n.n.
Acetovanillon	33,9	64,0	100,4	57,8	115,9	133,8	183,0
δ-Decalacton	3,8	3,0	3,3	2,8	3,5	1,9	2,5
Methylvanillat	70,9	58,7	65,7	57,1	63,5	37,8	47,2
1-(4-Hydroxy-3methylphenyl)-2-propanon	4,9	60,3	173,0	48,7	250,6	237,7	360,7
Ethylvanillat	11,4	101,5	178,2	82,4	198,3	113,4	84,9
2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol	n.n.	40,2	84,5	35,7	102,9	n.n.	21,5
Syringaaldehyd	647,4	2784,2	5712,4	3689,3	8232,1	5584,8	9128,2

Die Substanzen Furfural, 5-Methylfurfural, 5-(Hydroxymethyl)-furfural, 5-Acetoxy-methyl-2-furaldehyd, 2,6-Dimethoxyphenol, Vanillin, Eugenol und Isoeugenol sind bei der Variante „Chipszugabe vor der Vergärung“ in wesentlich geringeren Konzentrationen bzw. nicht mehr nachweisbar. Bei Furfural und seinen Derivaten sowie bei Vanillin ist dies auf das reduktive Milieu während der Vergärung zurückzuführen. In diesem Milieu werden diese Aldehyde zum entsprechenden Alkohol reduziert [Sigler 2005].

Dieses hat natürlich auch sensorische Auswirkungen. So wird berichtet, dass die Zugabe nach der Vergärung verglichen mit der Zugabe vor der Vergärung zu deutlich stärkeren Noten an Vanille und würzigen Röstaromen führt [Schmidt 2005].

### **5.3 Praxisversuche an der LWG Veitshöchheim**

An der Bayerischen Landesanstalt für Weinbau und Gartenbau (LWG) Veitshöchheim wurden folgende Großversuche á 50 Liter mit JRS-Chips (klein) durchgeführt; die Kontaktzeit betrug in allen Fällen 28 Tage. Die Dosierung der Chips war mit 1g/l wesentlich geringer als bei den Versuchen aus 5.1, bei denen 10g/l zugegeben wurden.



- Weißburgunder mit 1g Chips je Liter, hefetrüb ohne Kernhefe
  - Keine Chips; WBU\_A1
  - Low toasted Chips; WBU\_A2
  - Medium toasted Chips; WBU\_A3
  - Heavy toasted Chips; WBU\_A4
- Weißburgunder mit 1g Chips je Liter, hefetrüb mit Kernhefe
  - Keine Chips; WBU\_B1
  - Low toasted Chips; WBU\_B2
  - Medium toasted Chips; WBU\_B3
  - Heavy toasted Chips; WBU\_B4
- Grauburgunder mit 1g Chips je Liter, hefetrüb ohne Kernhefe
  - Keine Chips, GBu\_ A1
  - Low toasted Chips, GBu\_ A2
  - Medium toasted Chips, GBu\_ A3
  - Heavy toasted Chips, GBu\_ A4
- Grauburgunder mit 1g Chips je Liter, hefetrüb mit Kernhefe
  - Keine Chips, GBu\_B1
  - Low toasted Chips, GBu\_B2
  - Medium toasted Chips, GBu\_B3
  - Heavy toasted Chips, GBu\_B4

Die Versuche zeigten, dass eine Dosierung von 1g Chips je Liter Wein zu gering war, um einen deutlichen Einfluss auf die Aromatik zu bewirken (Tabelle 14). Im Vergleich zu unbehandelten Weinen (unbehandelte Weine des LWG, WW\_000 aus 5.1, SM\_000 aus 5.2) wurden zwar zum Teil geringfügig höhere Werte gemessen, doch liegen auch diese unterhalb der in der Literatur angegebenen Geruchsschwellen [López 2002]. Sensorische Verkostungen der Weine durch Prüfer des LWG ergaben auch keine deutlichen Holznoten.

Tabelle 14: Mittelwerte [ $\mu\text{g/l}$ ], der mit Chips behandelten Weine aus den Großversuchen des LWG im Vergleich zu den Mittelwerten der unbehandelten Weine des LWG sowie weiterer unbehandelte Weine

<b>Substanz</b>	<b>Mittelwert mit Chips behandelte Weine des LWG [<math>\mu\text{g/l}</math>]</b>	<b>Mittelwerte unbehandelte Weine [<math>\mu\text{g/l}</math>]</b>
Furfural	25,6	n.n.
5-Methylfurfural	n.n.	n.n.
Guaiacol	0,6	0,2
4-Methylguaiacol	0,1	n.n.
5-(Hydroxymethyl)-furfural	22,4	9,8
4-Ethylguaiacol	n.n.	n.n.
E-Whiskylacton	n.n.	n.n.
5-Acetoxymethyl-2-furaldehyd	0,3	n.n.
4-Vinylguaiacol	175,3	180,5
Z-Whiskylacton	n.n.	n.n.
2,6-Dimethoxyphenol	2,2	0,1
Eugenol	n.n.	n.n.
4-Propylguaiacol	0,7	6,3
Vanillin	36,6	121,1
Isoeugenol	0,9	0,8
Acetovanillon	10,5	14,2
$\delta$ -Decalacton	1,4	1,7
Methylvanillat	15,2	26,1
1-(4-Hydroxy-3methylphenyl)-2-propanon	8,4	4,8
Ethylvanillat	3,5	3,6
2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol	21,6	14,4
Syringaldehyd	846,3	542,8

## 5.4 Amerikanische und französische Chips

Um das Aromaprofil anderer Eichenholzchips zu erfassen, wurden auch Chips aus französischer und amerikanischer Eiche (siehe 3.1) verwendet. Die Ansätze erfolgten mit einer Dosierung von 10g Chips je Liter Wein (Residenzschoppen aus 3.2); die Ansätze lagerten 28 Tage.

Die Versuchskürzel enthalten folgende Information:

- AE / FE: AE=amerikanische Eiche, FE=französische Eiche
- 4 / 8: Chipsgröße; 4=klein, 8=groß
- M / H: Toastung; M=medium toasted, H=heavy toasted

Tabelle 15: Vergleich der Konzentrationen der Holzaromastoffe in Ansätzen von Eichenholzchips medium und heavy toasted aus schwäbischer, amerikanischer und französischer Eiche, alle Angaben in µg/l

Substanz	WW_AE_28	WW_FE_28	WW_4M28	WW_4H28	WW_8M28	WW_8H28
Furfural	574,3	4520,1	1439,5	1907,3	1451,9	2633,5
5-Methylfurfural	115,5	379,4	191,2	202,2	192,5	219,4
Guaiacol	6,7	19,4	5,1	13,6	5,0	19,5
4-Methylguaiacol	6,1	35,0	9,8	14,1	4,7	19,9
5-(Hydroxymethyl)-furfural	180,8	577,9	536,4	435,9	517,9	386,9
4-Ethylguaiacol	3,3	9,2	2,8	5,5	3,2	6,4
E-Whiskylacton	n.n.	13,5	8,6	3,5	0,0	1,5
5-Acetoxymethyl-2-furaldehyd	6,3	95,2	20,1	31,3	16,1	45,4
4-Vinylguaiacol	132,3	97,6	169,2	161,2	189,6	126,3
Z-Whiskylacton	n.n.	13,4	20,0	10,0	11,8	8,4
2,6-Dimethoxyphenol	21,2	103,0	14,3	45,6	12,2	77,6
Eugenol	n.n.	12,6	11,0	18,7	9,4	18,2
4-Propylguaiacol	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Vanillin	1005,4	2264,3	524,8	873,5	502,9	1082,3
Isoeugenol	9,7	35,1	51,7	140,4	41,8	129,7
Acetovanillon	4,6	97,7	42,7	69,8	36,8	88,8
δ-Decalacton	2,6	1,8	1,8	1,9	1,5	1,8
Methylvanillat	21,8	22,6	21,0	23,0	20,6	24,1
1-(4-Hydroxy-3methylphenyl)-2-propanon	52,7	473,2	47,7	130,8	39,9	192,3
Ethylvanillat	85,8	297,6	66,5	119,6	56,1	147,1
2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol	32,5	101,3	38,4	70,4	35,6	88,2
Syringaaldehyd	3694,3	11371,0	3191,1	5277,7	2601,0	6650,7

Es zeigen sich hier (Tabelle 15) bereits deutliche Unterschiede einzelner Substanzen, zum Beispiel Furfural und Vanillin, zwischen den verwendeten Chips. Aufgrund der starken Abhängigkeit der Konzentration der meisten Substanzen vom Toastungsgrad [Jordao 2005], wurde versucht die Verhältnisse durch interne Verrechnung zu verdeutlichen.

Dazu wurde die relative Konzentration jeder Substanz bezogen auf die Konzentration des 5-Acetoxymethyl-2-furaldehyd berechnet. Hieraus ergibt sich Tabelle 16.

Tabelle 16: Relative Konzentrationen der Substanzen bezogen auf die Konzentration des 5-Acetoxymethyl-2-furaldehyd

Substanz	WW_AE_28	WW_FE_28	WW_4M28	WW_4H28	WW_8M28	WW_8H28
Furfural	91,10	47,47	71,67	60,87	90,23	58,04
5-Methylfurfural	18,32	3,98	9,52	6,45	11,96	4,84
<b>Guaiacol</b>	<b>1,06</b>	<b>0,20</b>	<b>0,25</b>	<b>0,43</b>	<b>0,31</b>	<b>0,43</b>
<b>4-Methylguaiacol</b>	<b>0,96</b>	<b>0,37</b>	<b>0,49</b>	<b>0,45</b>	<b>0,29</b>	<b>0,44</b>
5-(Hydroxymethyl)-furfural	28,69	6,07	26,71	13,91	32,18	8,53
<b>4-Ethylguaiacol</b>	<b>0,53</b>	<b>0,10</b>	<b>0,14</b>	<b>0,18</b>	<b>0,20</b>	<b>0,14</b>
E-Whiskylacton	0,00	0,14	0,43	0,11	0,00	0,03
5-Acetoxymethyl-2-furaldehyd	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
4-Vinylguaiacol	20,98	1,03	8,42	5,14	11,79	2,78
Z-Whiskylacton	0,00	0,14	1,00	0,32	0,73	0,19
2,6-Dimethoxyphenol	3,37	1,08	0,71	1,46	0,76	1,71
Eugenol	0,00	0,13	0,55	0,60	0,58	0,40
4-Propylguaiacol	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Vanillin</b>	<b>159,49</b>	<b>23,78</b>	<b>26,13</b>	<b>27,88</b>	<b>31,25</b>	<b>23,85</b>
Isoeugenol	1,54	0,37	2,58	4,48	2,60	2,86
Acetovanillon	0,73	1,03	2,13	2,23	2,28	1,96
δ-Decalacton	0,41	0,02	0,09	0,06	0,09	0,04
Methylvanillat	3,46	0,24	1,05	0,73	1,28	0,53
1-(4-Hydroxy-3methylphenyl)-2-propanon	8,36	4,97	2,38	4,18	2,48	4,24
<b>Ethylvanillat</b>	<b>13,62</b>	<b>3,13</b>	<b>3,31</b>	<b>3,82</b>	<b>3,49</b>	<b>3,24</b>
<b>2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol</b>	<b>5,16</b>	<b>1,06</b>	<b>1,91</b>	<b>2,25</b>	<b>2,22</b>	<b>1,94</b>
<b>Syringaldehyd</b>	<b>586,02</b>	<b>119,41</b>	<b>158,88</b>	<b>168,44</b>	<b>161,65</b>	<b>146,57</b>

Hieraus werden folgende Unterschiede deutlich:

- Bei der amerikanischen Eiche treten im Vergleich zur europäischen Eiche (französisch und schwäbisch) Guaiacol und seine Derivate (4-Methylguaiacol und 4-Ethylguaiacol) in relativ höheren Konzentrationen auf (**gelb**)
- Bei der amerikanischen Eiche treten im Vergleich zur europäischen Eiche (französisch und schwäbisch) 2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol und Syringaldehyd in relativ höheren Konzentrationen auf (**blau**)
- Bei der amerikanischen Eiche treten im Vergleich zur europäischen Eiche (französisch und schwäbisch) Vanillin und Ethylvanillat in relativ höheren Konzentrationen auf (**rot**)

Auffällig an den amerikanischen Chips ist, dass weder E- noch Z-Whiskylacton nachgewiesen werden konnte.

Es lässt sich feststellen, dass sich die relativen Konzentration bzw. Konzentrationsverhältnisse der Eichenholzchips aus französischer Eiche nicht bzw. nur geringfügig von denen aus schwäbischer Eiche unterscheiden.

## 5.5 Barriqueweinen

Die entwickelte Methode wurde auch für die Analyse von Barriqueweinen verwendet. Es wurden 26 fränkische Barriqueweine aus dem Handel untersucht. Die einzelnen Ergebnisse der Analysen sind dem Anhang zu entnehmen.

Tabelle 17: Minima, Maxima, Mittelwerte und Standardabweichungen der erfassten Substanzen bei 26 roten und weißen Barriqueweinen verschiedener fränkischer Winzerbetriebe

Substanz	Minimum [µg/l]	Maximum [µg/l]	Mittelwert [µg/l]	Standardabweichung [µg/l]	rel. Standard- abweichung [%]
Furfural	0,0	3302,8	990,9	980,3	98,9%
5-Methylfurfural	0,0	396,4	109,1	123,4	113,2%
Guaiacol	0,0	24,5	8,5	6,6	76,8%
4-Methylguaiacol	0,0	10,7	1,4	2,7	195,8%
5-(Hydroxymethyl)-furfural	0,0	707,7	164,5	160,8	97,8%
4-Ethylguaiacol	0,0	45,8	4,1	11,5	280,5%
E-Whiskylacton	0,0	152,9	54,8	49,2	89,7%
5-Acetoxy-methyl-2-furaldehyd	0,0	4,2	0,5	1,2	217,6%
4-Vinylguaiacol	0,0	141,8	18,4	36,0	195,1%
Z-Whiskylacton	13,1	304,0	108,2	82,2	76,0%
2,6-Dimethoxyphenol	1,5	104,2	25,2	24,6	97,3%
Eugenol	2,5	26,2	13,3	7,2	53,7%
4-Propylguaiacol	0,0	7,3	1,4	2,6	185,1%
Vanillin	5,1	274,8	121,2	64,8	53,5%
Isoeugenol	0,0	21,6	3,2	4,9	155,1%
Acetovanillon	6,4	132,2	44,0	31,3	71,2%
δ-Decalacton	0,0	6,9	2,0	1,6	76,4%
Methylvanillat	8,4	43,1	24,2	10,8	44,7%
1-(4-Hydroxy-3methylphenyl)-2-propanon	7,8	162,2	44,5	38,6	86,8%
Ethylvanillat	3,3	678,2	189,1	167,6	88,6%
2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol	21,7	48,9	30,7	7,4	24,0%
Syringaaldehyd	710,9	2758,4	1481,3	566,8	38,3%

Wie man Tabelle 17 entnehmen kann, gibt es bei den untersuchten Weinen innerhalb der einzelnen Substanzen starke Schwankungen. Dies ist auf unterschiedlich lange Lagerzeiten im Barriquefass, die Toastung des Barriquefasses und die Herkunft des verwendeten Holzes zurückzuführen; außerdem kann die Entwicklung des Aromaprofils durch die Redoxführung während der Lagerung im Barriquefass beeinflusst werden [Schneider o. J.]. All diese Informationen sind rückverfolgbar, sollten hier aber nicht berücksichtigt werden.

Um Unterschiede der Mittelwerte und Varianzen der einzelnen Substanzen zwischen den Barriqueweinen und den Weinen, die mit Chips behandelt wurden (aus 5.1), zu erkennen, wurde ein t-Test (Vergleich der Mittelwerte) und ein F-Test (Vergleich der Varianzen) durchgeführt. Unterschiede beim angegebenen Signifikanzniveau ( $\alpha=0,01$  bzw.  $\alpha=0,05$ ) sind für die jeweiligen Substanzen in Tabelle 18 rot markiert.

Tabelle 18: Unterschiede von Barriqueweinen und Chipsweinen bezüglich Mittelwert und Varianz der jeweiligen Substanzen

	Mittelwert [ $\mu\text{g/l}$ ]		Unterschied ( $\alpha=0,01$ )	Varianz		Unterschied ( $\alpha=0,05$ )
	Chips	Barrique		Chips	Barrique	
Furfural	1696,8	990,9	■	273389,3	960900,2	■
5-Methylfurfural	199,5	109,1	■	401,0	15229,2	■
Guaiacol	10,4	8,5		39,4	43,0	
4-Methylguaiacol	7,7	1,4	■	65,7	7,1	■
5-(Hydroxymethyl)-furfural	415,7	164,5	■	10733,9	25866,6	■
4-Ethylguaiacol	4,2	4,1		2,8	132,6	
E-Whiskylacton	6,3	54,8	■	53,9	2418,7	■
5-Acetoxyethyl-2-furaldehyd	27,2	0,5	■	105,0	1,4	■
4-Vinylguaiacol	209,4	18,4	■	3482,3	1293,2	■
Z-Whiskylacton	11,4	108,2	■	37,3	6758,4	■
2,6-Dimethoxyphenol	35,3	25,2	■	687,6	603,3	■
Eugenol	12,6	13,3		20,1	51,4	■
4-Propylguaiacol	0,4	1,4	■	1,4	6,7	■
Vanillin	669,0	121,2	■	51043,7	4200,0	■
Isoeugenol	75,6	3,2	■	1803,2	24,5	■
Acetovanillin	55,6	44,0	■	377,6	981,6	■
?-Decalacton	2,7	2,0		1,4	2,4	
Methylvanillat	22,0	24,2		4,6	117,4	■
1-(4-Hydroxy-3methylphenyl)-2-propanon	91,7	44,5	■	3676,2	1491,7	■
Ethylvanillat	85,0	189,1	■	1285,5	28097,4	■
2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol	52,2	30,7	■	419,9	54,2	■
Syringaaldehyd	4349,7	1481,3	■	2352178,6	321292,1	■

Es zeigt sich, dass bei einer Vielzahl von Substanzen sowohl die Mittelwerte auch als die Varianzen signifikante Unterschiede aufweisen. So konnten vor allem bei Furfural, 5-Methylfurfural, 5-(Hydroxymethyl)-furfural, E- und Z-Whiskylacton, Vanillin, Ethylvanillat und Syringaaldehyd deutliche Unterschiede erkannt werden.

Flak und Mitarbeiter stellten ebenfalls deutliche Unterschiede bezüglich der Gehalte an E- und Z-Whiskylacton zwischen Chips- und Barriqueweinen fest; es zeigte sich, dass Chipsweine geringere Konzentrationen dieser beiden Substanzen enthalten als Barriqueweine [Flak 2002].

Bei den Substanzen Guaiacol, 4-Ethylguaiacol und Eugenol kann man davon ausgehen, dass diese Substanzen aus dem getoasteten Eichenholz extrahiert werden. Dies zeigten die Ergebnisse aus 5.1. Die genannten Substanzen erhöhten sich durch den Kontakt mit Eichenholzchips deutlich.

Im Gegensatz dazu sind die Substanzen  $\delta$ -Decalacton und Methylvanillat wie in 5.1 gezeigt wurde, schon im unbehandelten Wein vorhanden.

## **5.6 Hauptkomponentenanalyse der Chips- und Barriqueweine**

Die signifikanten Unterschiede zwischen Barriqueweinen und Weinen, die mit Eichenholzchips behandelt wurden, sollten mittels Hauptkomponentenanalyse bestätigt werden.

Folgende Proben wurden zur Berechnung der PCA herangezogen:

- Die unter Punkt 5.1 genannten Chipsweine, wobei WW\_000 als unbehandelter Wein angesehen wird
- Die unter Punkt 5.3 genannten Weine der LWG Veitshöchheim, wobei diese Weine aufgrund der geringen Konzentrationen als unbehandelte Weine angesehen wurden
- Die unter Punkt 5.4 genannten Weine, also Chipsweine mit französischer und amerikanischer Eiche
- Die unter Punkt 5.5 genannten Barriqueweine

Da auch Variable, also Substanzen, die sich monovariat nicht signifikant unterscheiden, einen Einfluss auf eine mögliche Trennung haben können, werden hier alle Substanzen, mit Ausnahme von 4-Vinylguaiacol, berücksichtigt.

Die Substanz 4-Vinylguaiacol liefert zwar signifikante Unterschiede bezüglich Mittelwert und Varianz, wird aber dennoch nicht berücksichtigt, da die erhöhte Konzentration der Chipsweine bereits im unbehandelten Residenzschoppen vorhanden war.

In Abbildung 40 ist der Score-Plot der PCA dargestellt. Die herangezogenen Proben werden in drei Gruppen aufgetrennt, die sich folgendermaßen charakterisieren lassen:

- Gruppe 1 (roter Umrandung): Weine, die mit Eichenholzchips behandelt wurden
- Gruppe 2 (grüne Umrandung): Weine, die nicht behandelt wurden bzw. nur sehr geringe Konzentrationen der relevanten Aromastoffe aufweisen
- Gruppe 3 (blaue Umrandung): Weine, die im Barriquefass gelagert wurden

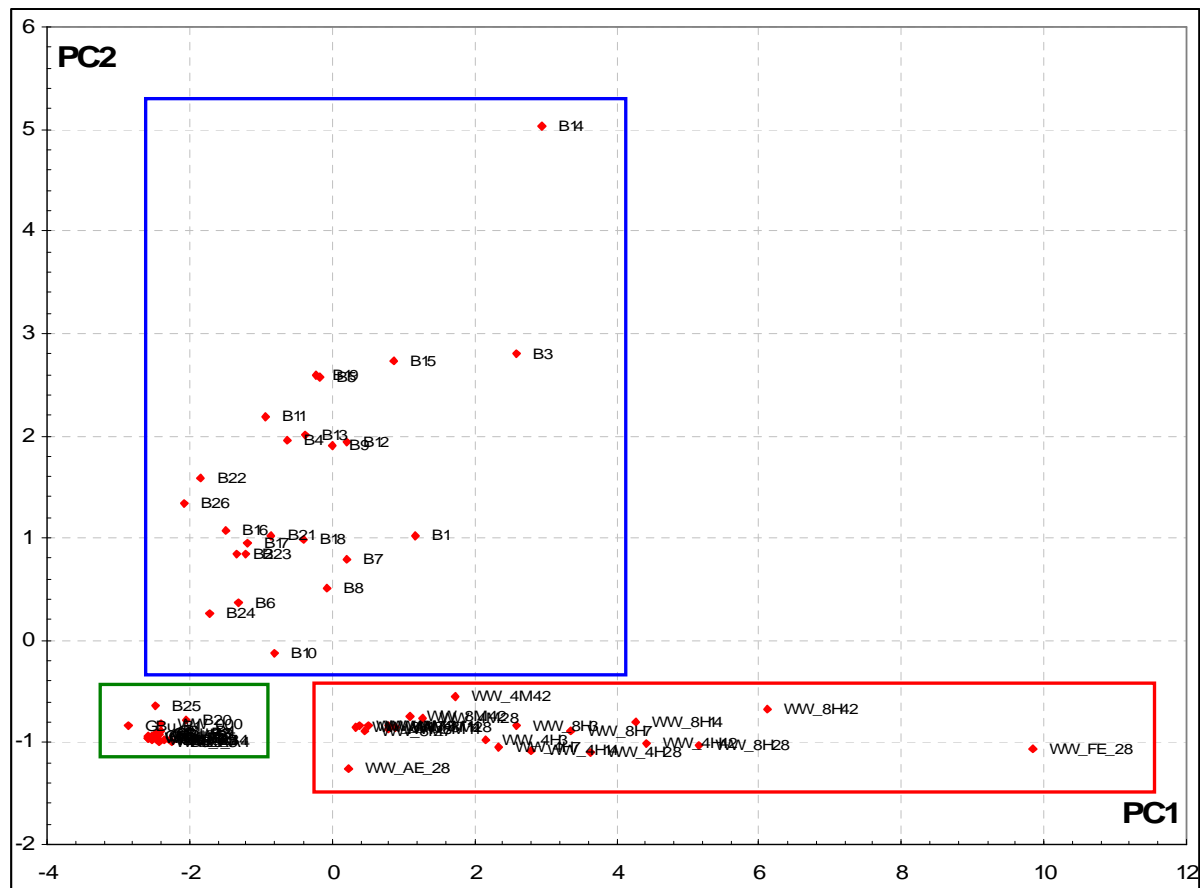


Abbildung 40: Score-Plot der PCA aller untersuchter Proben

Aus dem Score-Plot (Abbildung 40) ist erkennbar, dass die Chipsweine vor allem auf PC1 laden, während die Barriqueweine vor allem auf PC2 laden.

Die hier verwendeten ersten beiden Hauptkomponenten erklären bereits 70% der Gesamtvarianz der untersuchten Proben. Die nachfolgenden Hauptkomponenten liefern lediglich einen Beitrag von 8 bis 4%. Eine Varianz in dieser Größenordnung ist aufgrund der Wiederholbarkeit der Bestimmungen (siehe 4.7) auf Messungenauigkeiten zurückzuführen.



Der Loading-Plot (Abbildung 40) zeigt, dass diese Auftrennung vor allem auf die Substanzen Z-Whiskylacton, E-Whiskylacton und Ethylvanillat einerseits und auf die Substanzen Vanillin, Syringaaldehyd, Furfural, 5-Methylfurfural und 5-(Hydroxymethyl)-furfural andererseits zurückzuführen ist. Dabei laden die erstgenannten Substanzen hauptsächlich auf PC2, während die letztgenannten hauptsächlich auf PC1 laden.

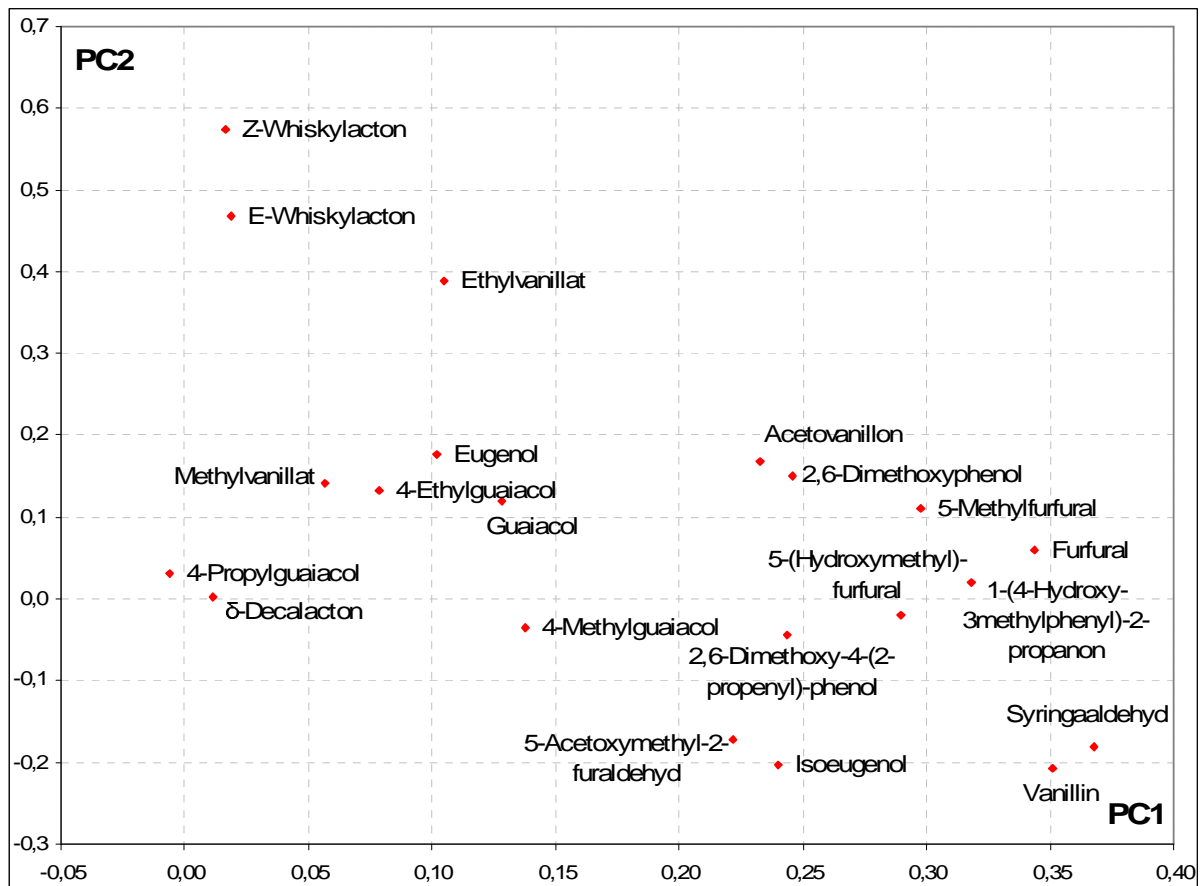


Abbildung 41: Loading-Plot der PCA aller untersuchter Proben

## **5.7 Differenzierung önologischer Verfahren – SIMCA**

Um eine Differenzierung unbekannter Proben vorzunehmen, wurde eine Klassifizierung über SIMCA durchgeführt.

Für die Differenzierung wurden folgende PCA-Modelle verwendet:

- Alle unter Punkt 5.1 und 5.4 genannten Chipsweine; die Weine WW\_4H7 und WW\_8M42 wurden nicht für die Entwicklung des Modells verwendet, sie wurden als „unbekannte Proben“ für die Klassifizierung herangezogen
- Alle unter Punkt 5.5 genannten Barriqueweine; die Barriqueweine B6 und B24 wurden nicht für die Entwicklung des Modells verwendet, sie wurden als „unbekannte Proben“ für die Klassifizierung herangezogen
- Alle unter Punkt 5.3 genannten Weine, sowie Wein WW\_000 aus Punkt 5.1; die Weine GBu\_B2 und WBU\_B2 wurden nicht für die Entwicklung des Modells verwendet, sie wurden als „unbekannte Proben“ für die Klassifizierung herangezogen

Die Proben, die hier nicht zur Entwicklung des Modells herangezogen wurden, wurden als „unbekannte Proben“ für die Klassifizierung bzw. Validierung des Modells verwendet.

Für die Modellierung der drei Gruppierungen wurden folgende Variablen herangezogen:

- Furfural
- 5-Methylfurfural
- Guaiacol
- 4-Methylguaiacol
- 5-(Hydroxymethyl)-furfural
- 4-Ethylguaiacol
- E-Whiskylacton
- 5-Acetoxymethyl-2-furaldehyd
- Z-Whiskylacton
- 2,6-Dimethoxyphenol
- Eugenol
- Vanillin
- Isoeugenol
- Acetovanillon
- Methylvanillat
- 1-(4-Hydroxy-3-methylphenyl)-2-propanon
- Ethylvanillat
- 2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol
- Syringaaldehyd

Die restlichen Variablen wurden nicht berücksichtigt, da sie für die Klassifizierung keine ausreichende Trennleistung zeigten. Ein Beachten dieser Variablen würde zu einer Verschlechterung der Trennung durch statistisches Rauschen führen.

Die Klassifizierung wurde durch die Verwendung von fünf Hauptkomponenten für jedes Modell sowie mit einem Signifikanzniveau von 5% durchgeführt.

Die Zuordnung der sechs „unbekannten Proben“ ergab das in Tabelle 19 gezeigte Ergebnis.

Tabelle 19: Ergebnis der Klassifizierung mit SIMCA (♦ entspricht Zuordnung)

	<b>Barriquewein</b>	<b>Chipswein</b>	<b>unbehandelter Wein</b>
WW_4H7		♦	
WW_8M42		♦	
WBU_B2	♦		♦
GBU_B2	♦		♦
B6	♦		
B24	♦		

Es zeigt sich, dass die unbehandelten Weine WBU\_B2 und GBU\_B2 zur Gruppe „unbehandelte Weine“ und zur Gruppe „Barriqueweine“ zugeordnet wurden. Die Zuordnung der Barrique- und Chipsweine wurde richtig ausgeführt.

Bei der Betrachtung der Si-Hi-Plots der drei Modelle (Abbildungen 41 bis 43) ist eine eindeutige Differenzierung möglich.

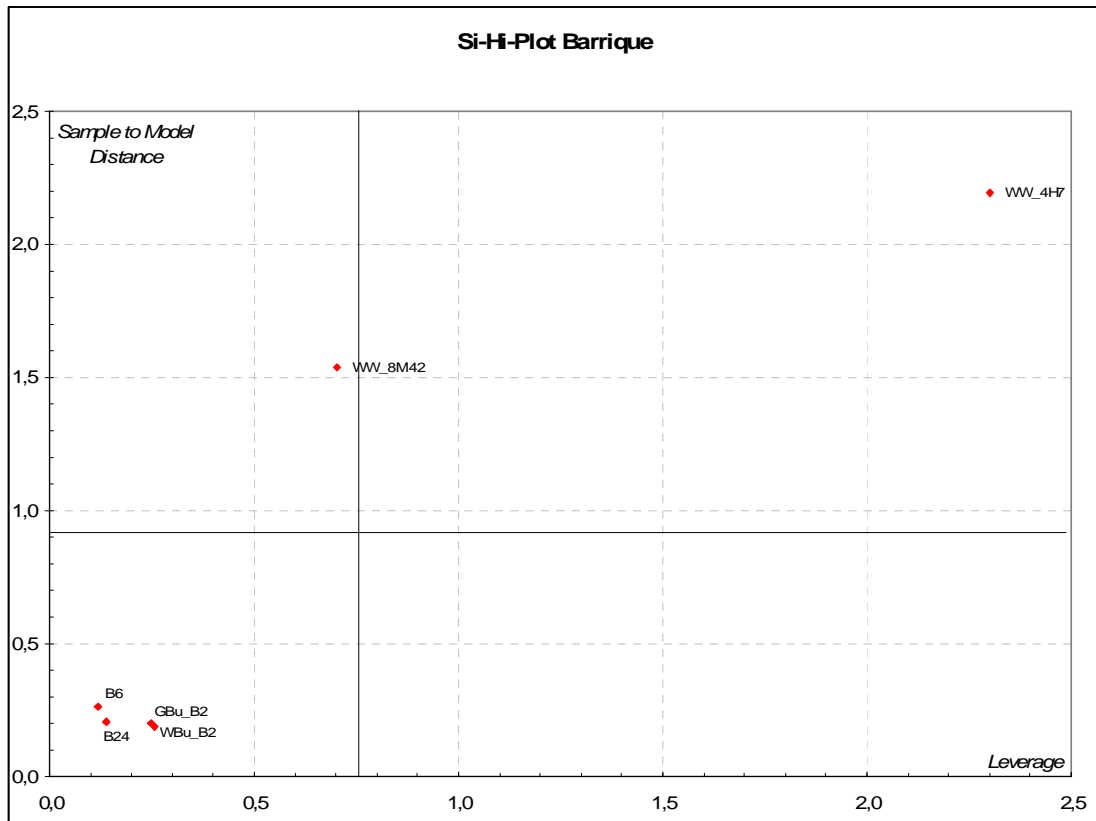


Abbildung 42: Si-Hi-Plot der „unbekannten Proben“ im Modell Barriqueweine

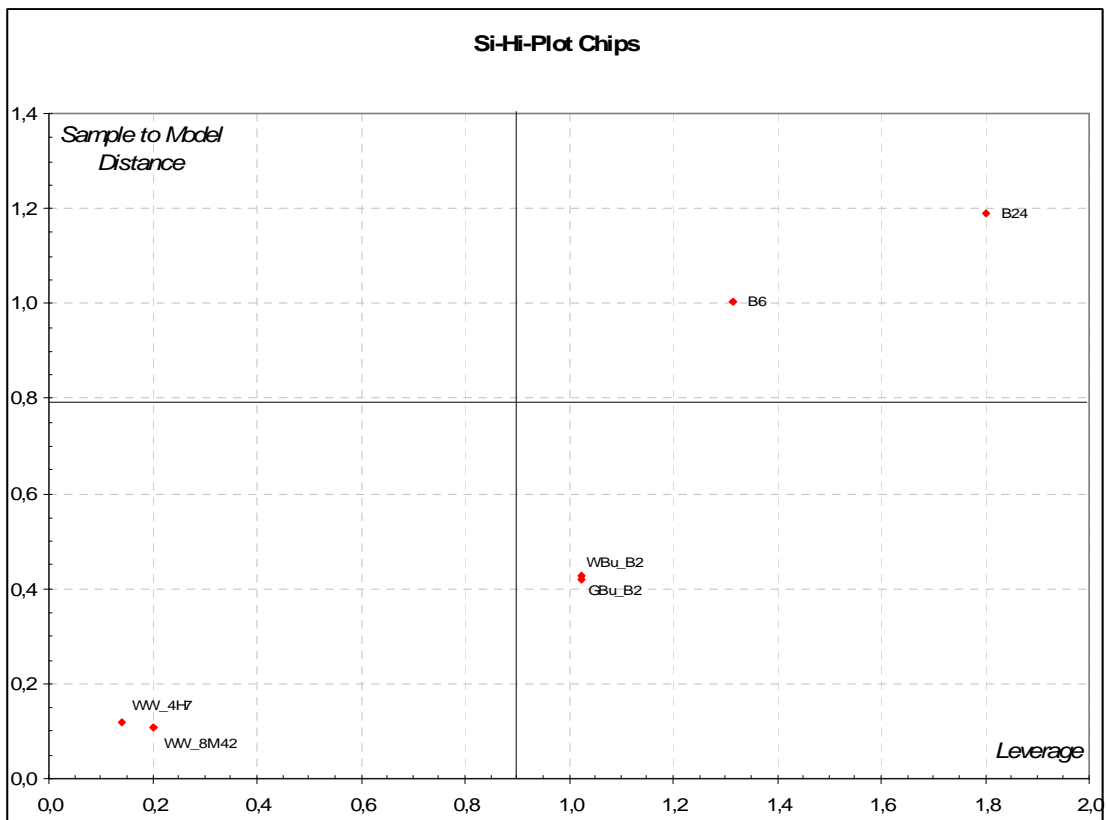


Abbildung 43: Si-Hi-Plot der „unbekannten Proben“ im Modell Chipsweine

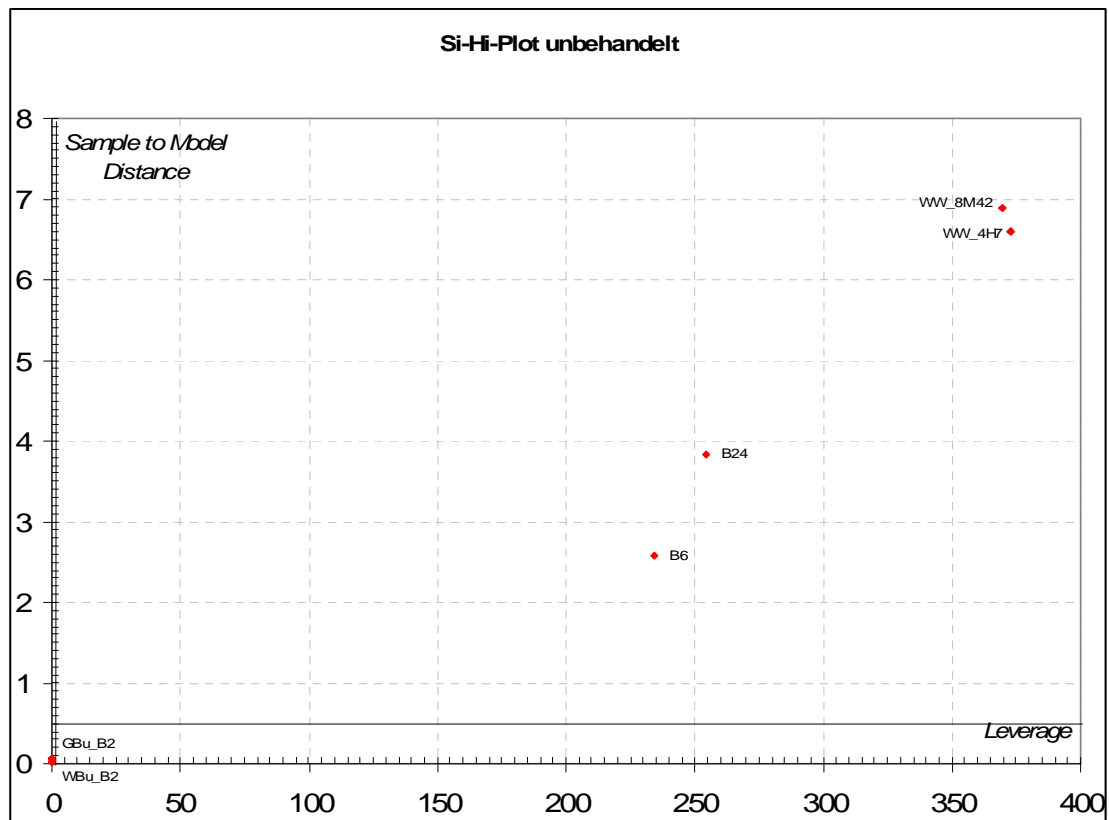


Abbildung 44: Si-Hi-Plot der „unbekannten Proben“ im Modell unbehandelte Weine

Die „unbekannten Proben“ WBU\_B2 und GBU\_B2 sowie B6 und B24 gehören nach Betrachtung des Si-Hi-Plots des Modells Barriqueweine (Abbildung 42) zu dieser Gruppierung; die Zuordnung der Proben WBU\_B2 und GBU\_B2 ist also falsch, da dies unbehandelte Weine sind. Die beiden Chipsweine WW\_4H7 und WW\_8M42 liegen nicht innerhalb dieser Gruppierung.

Betrachtet man den Si-Hi-Plot des Modells Chipsweine (Abbildung 43) so ist ersichtlich, dass alle „unbekannten Proben“ richtig zugeordnet werden; die beiden Chipsweine WW\_4H7 und WW\_8M42 liegen innerhalb und die unbehandelten Weine sowie die Barriqueweine liegen außerhalb der Gruppierung.

Bei Betrachten des Si-Hi-Plots des Modells unbehandelte Weine (Abbildung 44) werden die „unbekannten Proben“ richtig zugeordnet, das heißt die Proben WBU\_B2 und GBU\_B2 liegen innerhalb der Gruppierung, während die Proben WW\_4H7 und WW\_8M42 sowie B6 und B24 außerhalb dieser Gruppierung liegen. Es ist also auf diesem Wege eine Differenzierung zwischen Barriqueweinen und unbehandelten Weinen möglich.

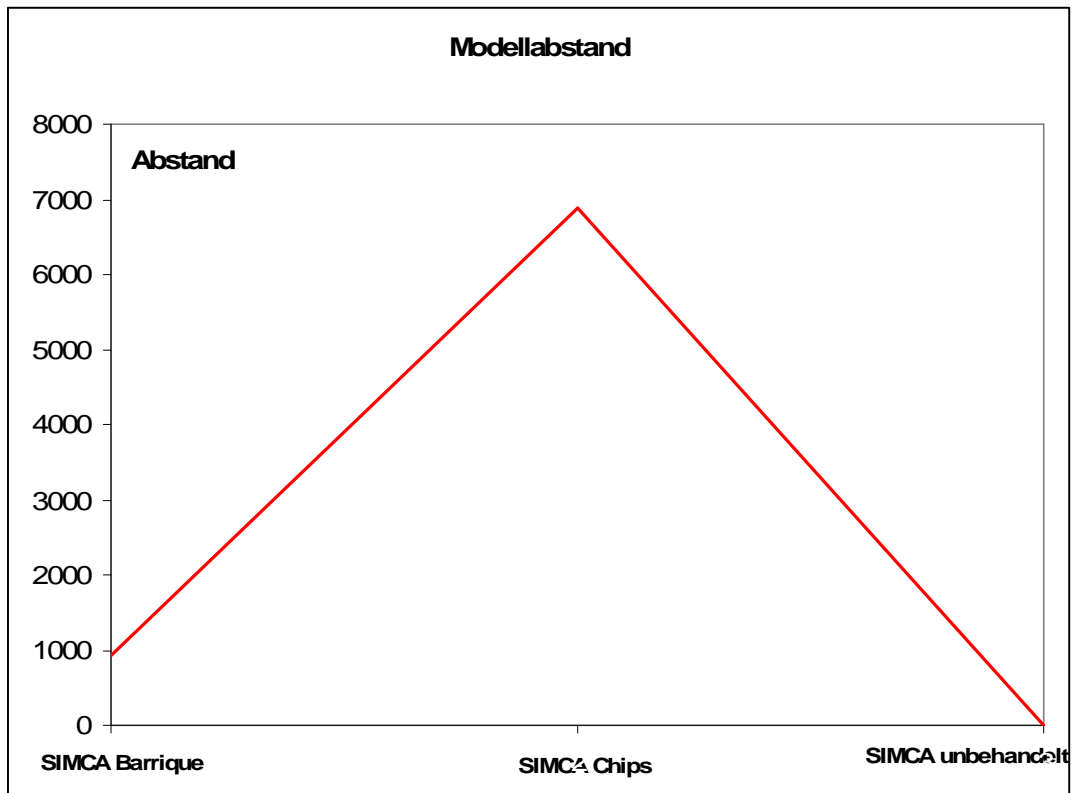


Abbildung 45: Abstand der Modelle bezogen auf das Modell unbehandelte Weine

Betrachtet man die Abstände der Modelle zueinander (Abbildung 45), so ist auch hieraus ersichtlich, dass es zu einer deutlichen Trennung verschieden behandelter Weine kommt. Die kritische Grenze für einen signifikanten Unterschied zwischen Modellen ist ein Abstand von größer als 3 [Esbensen 2002]; hier wird ein Abstand von mindestens 900 erreicht.

Arapitsas und Mitarbeiter untersuchten die Differenzierung von mit Eichenholzchips behandeltem Wein und Barriqueweinen. Es gelang eine Differenzierung mit Hilfe der Diskriminanzanalyse [Arapitsas 2004].

## 6. Zusammenfassung und Ausblick

Es wurde eine Methode entwickelt, die die quantitative Bestimmung der holzbürtigen Aromastoffe in Weinen ermöglicht. Durch die Anwendung multivariater statistischer Verfahren gelang es zudem Barriqueweine des Handels, Chipsweine und unbehandelte Weine zu differenzieren.

In der vorliegenden Arbeit wurden 22 Aromastoffe in Weinen, die mit getoasteten Eichenholzchips aus schwäbischer Eiche behandelt wurden, nachgewiesen. Bei der qualitativen Analyse konnten im Zusammenhang mit Eichenholzchips zum ersten Mal die Substanzen 5-Acetoxymethyl-2-furaldehyd, 1-(4-Hydroxy-3-methylphenyl)-2-propanon und 2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol nachgewiesen werden.

Eine Auswahl dieser 22 Aromastoffe wurde zunächst mit fünf verschiedenen SPE-Kartuschen verschiedener Hersteller angereichert, isoliert und mittels GC-MS qualitativ und quantitativ (interner Standard 2-Octanol) bestimmt. Es zeigte sich, dass sich LiChrolut EN, Firma Merck, von den getesteten SPE-Kartuschen am besten für die Herstellung nicht-selektiver Weinaromaextrakte eignet. Bei den ausgewählten Substanzen wurden Wiederfindungen von größer als 90% ermittelt.

Auf der Grundlage der durchgeführten Voruntersuchungen, insbesondere der Wiederfindung, wurde eine Methode zur Bestimmung von 22 Aromastoffen entwickelt, kalibriert und validiert. Die Substanzen zeigten überwiegend lineares Verhalten bei Korrelationen von 0,986 bis 0,999. Die Nachweisgrenzen, die über das Signal-zu-Rausch-Verhältnis ermittelt wurden, lagen im Bereich von 0,03 bis 0,47 µg/l, für Syringaaldehyd bei 57,1 µg/l. Der Test auf Wiederholbarkeit ergab mit Werten von kleiner als 10% für die meisten Analyte in Rot- und Weißwein zufrieden stellende Werte. Bei der Wiederfindung in Rot- und Weißwein wurden Werte von meist größer als 80% gefunden.

Mit der validierten Methode wurden folgende Versuchsreihen analysiert:

- Um den Einfluss von Chipsgröße, Toastungsgrad und Kontaktzeit sowie Wechselwirkungen dieser Faktoren auf die Konzentrationen der Aromastoffe zu ermitteln, wurden 20 Ansätze mit 10g Chips je Liter Wein nach einem vollständigen Versuchsplan angesetzt und analysiert. Es zeigten sich signifikante Einflüsse auf die Konzentrationen der meisten Substanzen; zum Teil im Bereich von 350%. Zusätzlich wurde anhand dieser Versuche das Migrationsverhalten der einzelnen Aromastoffe untersucht.
- Um den Einfluss des Zugabezeitpunkts, das heißt vor bzw. nach der Vergärung, auf die Konzentrationen der ausgewählten Substanzen zu ermitteln, wurden einem Silvanermost 30g Chips je Liter zugesetzt. Parallel dazu wurden dem gleichen

Traubenmost nach der Vergärung 10g Chips je Liter zugesetzt. Es zeigte sich, dass die Variante „Chipszugabe vor der Vergärung“ wesentlich geringere Mengen an Furfural und seinen Derivaten sowie an Vanillin enthält.

- Bei einem Praxisversuch, der an einer Lehr- und Versuchskellerei durchgeführt wurde, wurde festgestellt, dass eine Dosierung von 1g Chips je Liter Wein zu gering ist, um mit den hier verwendeten schwäbischen Eichenholzchips den Wein zu aromatisieren. Sowohl analytisch als auch sensorisch zeigte sich keine deutliche Veränderung.
- Um die hier verwendeten Chips aus schwäbischer Eiche mit gängigen Chips vergleichen zu können, wurden Ansätze mit französischen und amerikanischen Chips hergestellt. Bei der Betrachtung der relativen Konzentrationen zeigte sich, dass die schwäbischen Chips mit den französischen Chips vergleichbar sind. Es konnten deutliche Unterschiede zu den amerikanischen Eichenholzchips festgestellt werden.
- Um die hergestellten Chipsweine mit Barriqueweinen vergleichen zu können, wurden 26 fränkische Barriqueweine aus dem Handel untersucht. Es zeigten sich signifikante Unterschiede bezüglich der Mittelwerte und der Varianzen bei fast allen Aromastoffen.

Die Durchführung einer Hauptkomponentenanalyse mit den Barriqueweinen, den Chipsweinen sowie den Weinen aus dem Praxisversuch lieferte drei Gruppierungen entsprechend der Behandlung der Weine. Diese Gruppierungen sind vor allem auf den Einfluss der Substanzen Z-Whiskylacton, E-Whiskylacton und Ethylvanillat einerseits und auf die Substanzen Vanillin, Syringaaldehyd, Furfural, 5-Methylfurfural und 5-(Hydroxymethyl)-furfural andererseits zurückzuführen.

Diese Gruppierungen wurden dazu genutzt um über die SIMCA-Methode eine Differenzierung zwischen den untersuchten Barriqueweinen, den Weinen aus dem Großversuch und den selbst hergestellten Chipsweinen durchzuführen. Einige Proben wurden nicht zur Modellierung des Modells herangezogen; diese wurden anschließend zur Validierung verwendet. Es gelang mit der berechneten SIMCA-Methode eine richtige Zuordnung der „unbekannten Proben“ zu den Klassen Barriquewein, Chipswein und unbehandelter Wein.

Um eine zuverlässige Differenzierung zwischen Eichenholzchipsbehandlung und Barriquefasslagerung zu ermöglichen, müssen weitere Untersuchungen an Eichenholzchips, das heißt an Chips verschiedener Hersteller und verschiedener regionaler Herkunft und an Barriqueweinen durchgeführt werden. Zudem müssen auch kellerwirtschaftliche Einflüsse wie Lagerzeit, Verschnitte und Mikrooxidation erfasst werden.



## 7. Literaturverzeichnis

- [Arapitsas 2004] P. Arapitsas, A. Antonopoulos, E. Stefanou, V.G. Dourtoglou; 2004; Artificial aging of wines using oak chips; Food Chemistry; 86; 563-570
- [Backhaus 1993] K. Backhaus, B. Erichson, W. Plinke, R. Weiber; 1993; Multivariate Analysemethoden: Eine anwendungsorientierte Einführung; Springer-Verlag; Berlin
- [Bauer 2003] A. Bauer; 2003; Entwicklung einer GC-MS Methode zur Analytik von polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen in getoastetem Eichenholzprodukten am Beispiel von Eichenholzchips und Barriquefässern; Diplomarbeit; Universität Kaiserslautern, Fachbereich Chemie
- [Danzer 2001] K. Danzer, C. Fischbacher, H. Hobert, K.-U. Jagemann; 2001; Chemometrik: Grundlagen und Anwendungen; Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg
- [De Hofmann 2002] E. De Hofmann, V. Stroobant; 2002; Mass Spectrometry, Principles and Applications; 2. Auflage; John Wiley & Sons, Ltd; Chichester, New York, Weinheim, Brisbane, Singapore, Toronto
- [Deming 1993] S.N. Deming, S.I. Morgan; 1993; Experimental Design: A Chemometric Approach; 2. Auflage; Elsevier; New York
- [Einax 1997] J.W. Einax, H.W. Zwanziger, S. Geiß; 1997; Chemometrics in Environmental Analysis; VCH; Weinheim
- [Esbensen 2002] K.H. Esbensen; 2002; Multivariate Data Analysis – in practice; 5. Auflage; CAMO Process AS; Oslo
- [Ferreira 2004] V. Ferreira, I. Jarauta, L. Ortega, J. Cacho; 2004; Simple strategy for the optimization of solid-phase extraction procedures through the use of solid-liquid distribution coefficients – Application to the determination of aliphatic lactones in wine; Journal of Chromatography A; 1025; 147-156
- [Flak 2002] W. Flak, G. Tscheik, R. Krizan, F. Spanitz, G. Weiß; 2002; Der Einfluss von Eichenholzchips auf das Aromaprofil und die sensorische Qualität von Rotwein; Mitteilungen Klosterneuburg; 52; 150-164
- [Flury 1983] B. Flury, H. Riedwyl; 1983; Angewandte multivariate Statistik; Gustav-Fischer-Verlag; Stuttgart
- [Gross 2004] J.H. Gross; Mass Spectrometry; 2004; Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York
- [Hamburg 1994] M. Hamburg, P. Young; 1994; Statistical Analysis for Decision Making; 6. Auflage; Duxbury Press; Belmont, California

- [Handl 2002] A. Handl; 2002; Multivariate Analysenmethoden; Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg
- [Haswell 1992] S.J. Haswell; 1992; Practical Guide to Chemometrics; Marcel Dekker Inc.; New York
- [Jarauta 2005] I. Jarauta, J. Cacho, V. Ferreira; 2005; Concurrent Phenomena Contributing to the Formation of the Aroma of Wine during Aging in Oak Wood: An Analytical Study; Journal of Agricultural and Food Chemistry; 53; 4166-4177
- [Jordao 2005] A.M. Jordao, J.M. Ricardo-Da-Silva, O. Laureano; 2005; Vergleich der flüchtigen Inhaltsstoffe von Eichenholz unterschiedlicher Herkünfte; Mitteilungen Klosterneuburg; 55; 22-31
- [LaborPraxis 2003] LaborPraxis 12/2003; Spurenanalytik; Automatisierte Festphasenextraktion für die PAK-Analytik; URL [http://www.laborpraxis.de/fachartikel/lp\\_fachartikel\\_572673.html](http://www.laborpraxis.de/fachartikel/lp_fachartikel_572673.html)
- [LaborPraxis 2005] LaborPraxis 5/2005; Special Probenvorbereitung; Flexible Methoden Festphasenextraktion; URL [http://www.laborpraxis.de/fachartikel/lp\\_fachartikel\\_1927348.html](http://www.laborpraxis.de/fachartikel/lp_fachartikel_1927348.html)
- [Lambrechts 2000] M.G. Lambrechts, I.S. Pretorius; 2000 Yeast and it's Importance to Wine Aroma - a Review; S. Afr. J. Enol. Vitic.; 21; Special Issue; 97-129
- [Läubli 2004] T. Läubli; 2004; Die verschiedenen GC/MS Techniken im Vergleich: Wann setzen wir welche MS Technik ein?; detecta 04; Basel
- [López 2002] R. López, M. Aznar, J. Cacho, V. Ferreira; 2002; Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection; Journal of Chromatography A; 966; 167-177
- [Lucke 2004] T. Lucke, S. Pauker; 2004; Multivariate Datenanalyse – Eine moderne Methode der Dateninterpretation; FH Aalen; Aalen
- [Maurer 1989] R. Maurer, E. Zvorschi; 1989; Das Holzfass – Seine Eigenschaften und Wirkungen auf den Wein; Weinwirtschaft und Technik; 10; 16-22
- [Maurer 1989 II] R. Maurer, E. Zvorschi; 1989; Holz als Fassmaterial; Weinwirtschaft und Technik; 9; 10-13
- [Morgan 1995] E. Morgan; 1995; Chemometrics: Experimental Design; John Wiley & Sons; New York
- [Schmidt 2003] Dr. O. Schmidt; 2003; Moderne Anwendung von Eichenholz in der Weinbereitung; URL <http://www.infodienst-mlr.bwl.de/la/lvwo/veroeff/weineichenholz.htm>

- [Schmidt 2005] Dr. O. Schmidt; 2005; Die Politik ist am Zug; Rebe & Wein; 2/2005; 23-25
- [Schneider 2005] V. Schneider; 2005; Barriques – Von der Eiche ins Glas; Das deutsche Weinmagazin; 23; 10-14
- [Schneider o. J.] V. Schneider; o. J.; Aromaprofile durch Eiche: Barriques im Vergleich; Schneider-Oenologie; 55411 Bingen
- [Schwedt 2004] G. Schwedt; 2004; Analytische Chemie; Wiley-VCH; Weinheim
- [Sigler 2005] Dr. J. Sigler; 2005; Eichenholz-Chips zur Weinbereitung?; Der Deutsche Weinbau; Nr. 16-17; 44-49
- [Stryer 1996] L. Stryer; 1996; Biochemie; 4. Auflage; Spektrum Akademischer Verlag; Heidelberg, Berlin, Oxford
- [Skoog 1996] D.A. Skoog, J.J. Leary; 1996; Instrumentelle Analytik: Grundlagen – Geräte - Anwendungen; Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York

## 8. Tabellen-, Abbildungs- und Abkürzungsverzeichnis

### 8.1 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Beispiel eines vollen Versuchsplans.....	16
Tabelle 2: Referenzsubstanzen mit CAS-Nummer und Hersteller.....	29
Tabelle 3: Retentionszeiten und zur Quantifizierung verwendetes Masse-Ladungsverhältnis aller Substanzen.....	31
Tabelle 4: Wiederfindungsraten in % von neun ausgewählten Substanzen .....	35
Tabelle 5: Kalibrierdaten der 21 ausgewählten Substanzen.....	37
Tabelle 6: Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze über Signal-Rausch-Verhältnis.....	37
Tabelle 7: Wiederholbarkeit (RSD %) in Weißwein und Rotwein (n=5) .....	38
Tabelle 8: Wiederfindung in Weißwein.....	39
Tabelle 9: Wiederfindung in Rotwein .....	39
Tabelle 10: Versuchsplan mit allen variierten Faktoren.....	40
Tabelle 11: Mittelwerte, Standardabweichungen und relative Standardabweichungen (RSD %) der einzelnen Substanzen der 20 Versuche aus Tabelle 10 (ohne WW_000) .....	41
Tabelle 12: p-Werte der einzelnen Faktoren bezüglich der Analyte .....	44
Tabelle 13: Konzentrationen von Aromastoffen in vergorenem Traubenmost der Rebsorte Silvaner bei Zusatz von Eichenholzchips vor Vergärung (SM_C_4H und SM_C_8H) und nach Vergärung, alle Angaben in µg/l.....	58
Tabelle 14: Mittelwerte [µg/l], der mit Chips behandelten Weine aus den Großversuchen des LWG im Vergleich zu den Mittelwerten der unbehandelten Weine des LWG sowie weiterer unbehandelter Weine.....	60
Tabelle 15: Vergleich der Konzentrationen der Holzaromastoffe in Ansätzen von Eichenholzchips medium und heavy toasted aus schwäbischer, amerikanischer und französischer Eiche, alle Angaben in µg/l .....	61
Tabelle 16: Relative Konzentrationen der Substanzen bezogen auf die Konzentration des 5-Acetoxymethyl-2-furaldehyd .....	62
Tabelle 17: Minima, Maxima, Mittelwerte und Standardabweichungen der erfassten Substanzen bei 26 roten und weißen Barriqueweinen verschiedener fränkischer Winzerbetriebe .....	63
Tabelle 18: Unterschiede von Barriqueweinen und Chipsweinen bezüglich Mittelwert und Varianz der jeweiligen Substanzen .....	64
Tabelle 19: Ergebnis der Klassifizierung mit SIMCA ( ♦ entspricht Zuordnung).....	69
Tabelle 20: Konzentrationen der einzelnen Substanzen der Chipsansätze; alle Angaben in µg/l; 0,0µg/l entspricht nicht nachgewiesen.....	81

Tabelle 21: Konzentrationen der einzelnen Substanzen der Großversuche der LWG; alle Angaben in µg/l; 0,0µg/l entspricht nicht nachgewiesen.....	82
Tabelle 22: Konzentrationen der einzelnen Substanzen der Barriqueweine; alle Angaben in µg/l; 0,0µg/l entspricht nicht nachgewiesen.....	83
Tabelle 23: Daten zu PCA „Chips medium toasted“ .....	84
Tabelle 24: Daten zu PCA „Chips heavy toasted“ .....	84
Tabelle 25: Daten zu PCA „Chips klein“ .....	85
Tabelle 26: Daten zu PCA „Chips groß“ .....	85
Tabelle 27: Daten zu PCA „Chips alle Ansätze“ .....	86
Tabelle 28: Daten zu PCA „alle untersuchten Proben“ .....	87
Tabelle 29: Daten zu Si-Hi-Plot „Modell Barrique“.....	88
Tabelle 30: Daten zu Si-Hi-Plot „Modell Chips“ .....	88
Tabelle 31: Daten zu Si-Hi-Plot „Modell unbehandelt“ .....	88
Tabelle 32: Daten zu Modellabständen.....	88

## **8.2 Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: Behälter zum Toasten von Holzfässern.....	4
Abbildung 2: Getoastetes Holzfass von innen.....	5
Abbildung 3: links Barriquefässer; rechts klassische Holzfässer .....	5
Abbildung 4: Eichenholzchips (links: klein medium toasted; rechts: groß heavy toasted).....	6
Abbildung 5: Anreicherung des Analyten mittels SPE .....	8
Abbildung 6: Entfernung der Matrix mittels SPE .....	9
Abbildung 7: Schematische Darstellung einer GC-MS-Kopplung mit Ioneneinfangdetektor (aus <a href="http://www.ivv.fhg.de">www.ivv.fhg.de</a> ) .....	11
Abbildung 8: Elektronenstoßionisator (aus <a href="http://www.vs-c.de">www.vs-c.de</a> ).....	12
Abbildung 9: Schematischer Aufbau eines Ioneneinfangdetektors (aus <a href="http://www.ivv.fhg.de">www.ivv.fhg.de</a> ) .....	13
Abbildung 10: Einfluss der Faktoren A und B auf die Zielgröße .....	16
Abbildung 11: Wechselwirkung Faktor A – Faktor B .....	17
Abbildung 12: Beschreibung von Variablen im 1D- und 2D-Raum [Esbensen 2002].....	19
Abbildung 13: Objekte als Schwarm von Datenpunkten im 3D-Raum [Esbensen 2002] .....	19
Abbildung 14: Schwarm von Datenpunkten mit PC1 [Esbensen 2002] .....	20
Abbildung 15: Zentrieren und Standardisieren von Variablen [Esbensen 2002] .....	21
Abbildung 16: Score-Plot [Esbensen 2002].....	22
Abbildung 17: Loading-Plot [Esbensen 2002] .....	23
Abbildung 18: Gruppierungen im Score-Plot (links); jede Gruppe modelliert mit eigener PCA (rechts) [Esbensen 2002].....	25

Abbildung 19: Coomans Plot .....	26
Abbildung 20: Si-Hi-Plot [Esbensen 2002] .....	26
Abbildung 21: Chromatogramm des verwendeten Chipskonzentrats .....	32
Abbildung 22: Migration des 5-Acetoxymethyl-2-furaldehyd; Konzentration in Abhängigkeit von der Kontaktzeit und der Chipsart.....	42
Abbildung 23: Migrationsverhalten des Acetovanillon; Konzentration in Abhängigkeit von der Kontaktzeit und der Chipsart.....	43
Abbildung 24: Konzentrationsänderung des 4-Vinylguaiacol; Konzentration in Abhängigkeit von der Kontaktzeit und der Chipsart.....	45
Abbildung 25: Migrationsverhalten des Methylvanillat; Konzentration in Abhängigkeit von der Kontaktzeit und der Chipsart.....	46
Abbildung 26: Einfluss der Kontaktzeit der Chips auf die Konzentration der Komponenten .	47
Abbildung 27: Einfluss der Toastung auf die Konzentration der Komponenten .....	48
Abbildung 28: Einfluss der Größe auf die Konzentration der Komponenten.....	49
Abbildung 29: Einfluss der Wechselwirkung Toastung-Größe auf die Konzentration der Komponenten .....	50
Abbildung 30: Score-Plot der PCA „Chipsversuche medium toasted“ .....	52
Abbildung 31: Loading-Plot der PCA „Chipsversuche medium toasted“ .....	52
Abbildung 32: Score-Plot der PCA „Chipsversuche heavy toasted“ .....	53
Abbildung 33: Loading-Plot der PCA „Chipsversuche heavy toasted“ .....	53
Abbildung 34: Score-Plot der PCA „Chipsversuche klein“ .....	54
Abbildung 35: Loading-Plot der PCA „Chipsversuche klein“.....	54
Abbildung 36: Score-Plot der PCA „Chipsversuche groß“ .....	55
Abbildung 37: Loading-Plot der PCA „Chipsversuche groß“.....	55
Abbildung 38: Score-Plot der PCA „Chips alle Ansätze“ .....	56
Abbildung 39: Loading-Plot der PCA „Chips alle Ansätze“ .....	56
Abbildung 40: Score-Plot der PCA aller untersuchter Proben .....	66
Abbildung 41: Loading-Plot der PCA aller untersuchter Proben.....	67
Abbildung 42: Si-Hi-Plot der „unbekannten Proben“ im Modell Barriqueweine .....	70
Abbildung 43: Si-Hi-Plot der „unbekannten Proben“ im Modell Chipsweine .....	70
Abbildung 44: Si-Hi-Plot der „unbekannten Proben“ im Modell unbehandelte Weine .....	71
Abbildung 45: Abstand der Modelle bezogen auf das Modell unbehandelte Weine .....	72

# 9. Anhang

## 9.1 Konzentrationen der untersuchten Proben

	Fural	5-Methylfural	Guaiacol	4-Methylguaiacol	5-(Hydroxymethyl)-fural	4-Ethylguaiacol	E-Whiskyfalcon	5-Acetoxy-methyl-2-furaldehyd	4-Vinylguaiacol	2-Whiskyfalcon	2,6-Dimethoxyphenol	Eugenol	4-Propylguaiacol	Vanillin	Isougenol	Acetovanillon	δ-Decalol	Methylvanillal	1-(4-Hydroxy-3-methylphenyl)-2-propanon	Ethylvanillal	2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol	Syringaldehyd
WW_000	0,0	0,0	0,3	0,0	52,4	0,0	0,0	0,0	314,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	18,2	1,5	24,3	5,2	7,6	23,9	657,6	
WW_4M3	1022,0	171,8	5,0	1,0	358,9	2,9	5,4	20,9	283,9	13,5	13,7	8,5	0,0	427,0	37,4	39,9	3,9	20,7	35,5	54,6	35,1	3263,9
WW_4M7	1082,1	173,0	4,7	0,0	336,2	1,8	9,5	18,3	222,7	15,6	11,5	7,8	3,5	422,6	39,4	35,5	1,4	17,7	34,6	47,6	32,7	3240,5
WW_4M14	1203,9	173,7	5,2	3,8	432,8	2,9	4,9	20,9	194,2	15,1	14,3	9,9	1,3	475,3	52,2	41,8	3,3	19,9	41,8	62,6	36,8	2817,1
WW_4M28	1439,5	191,2	5,1	9,8	536,4	2,8	8,6	20,1	169,2	20,0	14,3	11,0	0,0	524,8	51,7	42,7	1,8	21,0	47,7	66,5	38,4	3191,1
WW_4M42	1513,0	205,9	5,6	8,4	637,6	3,8	20,8	20,3	169,0	24,0	17,0	13,0	0,0	568,7	57,6	49,5	2,0	24,0	57,8	81,1	41,2	3446,2
WW_4H3	1495,7	197,6	13,1	0,0	323,3	4,9	0,0	29,1	295,7	1,3	41,2	12,2	0,0	663,6	76,8	59,3	4,0	23,0	93,9	81,1	51,6	4763,9
WW_4H7	1623,4	189,9	12,8	0,0	299,9	4,3	1,0	28,9	230,2	5,9	39,5	13,0	0,0	727,9	92,4	59,1	0,6	20,4	101,3	88,1	54,5	4898,6
WW_4H14	1684,9	187,7	12,2	0,0	350,5	5,1	0,0	29,3	199,2	9,4	40,3	16,2	0,0	745,3	125,0	63,5	3,2	21,4	112,3	107,5	64,5	4946,2
WW_4H28	1907,3	202,2	13,6	14,1	435,9	5,5	3,5	31,3	161,2	10,0	45,6	18,7	0,0	873,5	140,4	69,8	1,9	23,0	130,8	119,6	70,4	5277,7
WW_4H42	2266,7	227,9	14,6	15,6	528,5	5,3	7,1	32,0	135,7	12,7	51,4	20,9	0,0	939,1	150,1	76,3	2,3	25,3	146,4	133,8	79,4	5851,6
WW_8M3	1163,7	175,8	4,3	0,0	398,1	2,6	4,4	16,2	316,1	7,5	10,4	7,6	0,0	429,3	26,7	34,3	3,4	21,3	29,1	41,7	31,9	2876,3
WW_8M7	1332,8	195,9	4,0	0,0	378,8	2,4	0,0	19,0	280,7	10,6	10,3	7,6	3,9	454,4	31,4	33,8	2,0	18,9	32,7	44,4	31,8	2766,4
WW_8M14	1343,6	205,9	4,3	5,6	472,1	2,9	0,4	17,5	216,1	8,5	10,9	9,0	0,0	486,9	38,7	36,8	5,2	21,2	37,1	56,1	34,7	2705,4
WW_8M28	1451,9	192,5	5,0	4,7	517,9	3,2	0,0	16,1	189,6	11,8	12,2	9,4	0,0	502,9	41,8	36,8	1,5	20,6	39,9	56,1	35,6	2601,0
WW_9M42	1413,1	194,2	4,3	0,0	569,4	3,0	7,1	16,1	186,8	17,0	12,5	10,6	0,0	548,5	44,6	40,0	3,6	23,5	43,6	59,1	37,3	2949,5
WW_9H3	2126,4	232,2	16,4	9,6	280,5	4,5	0,0	31,7	290,2	0,0	56,0	8,9	0,0	633,8	50,0	59,9	4,5	22,9	115,6	75,7	50,7	5179,2
WW_9H7	2078,2	195,5	18,1	18,8	289,0	5,0	8,9	41,8	232,5	9,6	66,3	11,8	0,0	817,2	73,1	69,6	1,9	21,6	144,2	92,6	58,1	5896,7
WW_9H14	2291,7	213,6	19,1	19,4	326,3	6,2	19,0	43,4	170,6	7,3	70,8	15,9	0,0	911,5	104,7	79,2	3,8	22,3	176,9	124,5	73,7	6250,4
WW_9H28	2633,5	219,4	19,5	19,9	386,9	6,4	1,5	45,4	126,3	8,4	77,6	18,2	0,0	1082,3	129,7	88,8	1,8	24,1	182,3	147,1	88,2	6650,7
WW_9H42	2863,5	243,7	21,8	23,2	474,1	8,3	24,5	45,4	118,5	20,6	90,3	21,3	0,0	1144,9	148,7	96,7	2,2	26,6	221,0	160,5	88,1	7422,2
WW_AE_28	574,3	115,5	6,7	6,1	180,8	3,3	0,0	6,3	132,3	0,0	21,2	0,0	0,0	1005,4	9,7	4,6	2,6	21,8	52,7	85,8	32,5	3694,3
WW_FE_28	4520,1	379,4	19,4	35,0	577,9	9,2	13,5	95,2	97,6	13,4	103,0	12,6	0,0	2264,3	35,1	97,7	1,8	22,6	473,2	297,6	101,3	11371,0

Tabelle 20: Konzentrationen der einzelnen Substanzen der Chipsansätze; alle Angaben in µg/l; 0,0µg/l entspricht nicht nachgewiesen

	Furfural	5-methylfurfural	Gualacol	4-Methylgualacol	5-(Hydroxymethyl)-furfural	4-Ethylgualacol	E-Whiskyacton	5-Acetoxy-methyl-2-furaldehyd	4-Vinylgualacol	Z-Whiskyacton	2,6-Dimethoxyphenol	Eugenol	4-Propylgualacol	Vanillin	isoegenol	Acetovanillon	o-Decalacton	Methylvanillat	1-(4-Hydroxy-3-methylphenyl)-2-propanon	Ethylvanillat	2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol	Syringaldehyd
WBU_A1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	194,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5	8,4	1,5	13,5	5,2	0,0	21,2	866,6
WBU_A2	0,0	0,0	0,2	0,0	21,2	0,0	0,0	0,0	215,0	0,0	1,0	0,0	0,0	26,3	1,0	9,2	0,0	13,4	5,9	0,0	20,9	635,8
WBU_A3	21,8	0,0	0,5	0,0	26,8	0,0	0,0	0,3	222,8	0,0	1,7	0,0	0,0	36,3	1,0	10,5	1,4	13,8	7,4	0,4	21,3	933,9
WBU_A4	80,6	0,0	1,2	0,3	22,6	0,0	0,0	1,4	145,2	0,0	3,9	0,0	5,6	58,0	0,0	12,0	0,0	12,9	12,5	3,0	22,4	1307,6
WBU_B1	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	250,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,9	8,8	0,0	14,4	4,7	0,0	20,8	645,5
WBU_B2	0,0	0,0	0,2	0,0	21,2	0,0	0,0	0,0	243,3	0,0	0,9	0,0	0,0	21,9	0,9	9,3	2,0	14,5	5,5	0,0	20,9	733,9
WBU_B3	28,5	0,0	0,6	0,0	24,9	0,2	0,0	0,0	250,7	0,0	2,0	0,0	0,0	34,3	2,7	10,2	0,0	13,7	7,5	1,3	21,8	892,3
WBU_B4	53,5	0,0	1,1	0,3	21,1	0,0	0,0	0,0	202,9	0,0	3,6	0,0	0,0	59,2	1,5	12,8	2,0	15,3	12,3	4,5	22,5	1280,6
GBU_A1	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	136,0	0,0	0,8	0,0	0,0	0,0	1,7	7,8	1,0	16,4	4,5	1,6	20,9	639,9
GBU_A2	0,0	0,0	0,2	0,0	16,4	0,0	0,0	0,0	139,5	0,0	1,0	0,0	0,0	21,2	0,7	8,4	1,7	16,5	5,7	2,2	20,9	637,4
GBU_A3	21,8	0,0	0,5	0,0	25,7	0,0	0,0	0,7	135,9	0,0	2,0	0,0	0,0	31,1	1,9	10,0	2,4	17,1	7,1	6,2	21,7	739,5
GBU_A4	64,3	0,0	1,1	0,3	21,7	0,0	0,0	0,7	136,4	0,0	3,9	0,0	0,0	50,1	1,0	11,1	1,3	11,6	11,9	8,0	22,7	948,8
GBU_B1	0,0	0,0	0,1	0,0	6,1	0,0	0,0	0,0	145,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	8,4	2,2	16,8	4,3	1,1	0,0	0,0
GBU_B2	0,0	0,0	0,3	0,0	22,7	0,0	0,0	0,0	140,8	0,0	1,0	0,0	0,0	25,4	0,0	9,9	2,1	18,4	5,9	3,5	21,0	703,3
GBU_B3	9,4	0,0	0,5	0,0	25,3	0,0	0,0	0,0	118,0	0,0	1,7	0,0	2,9	31,4	0,0	10,6	1,7	17,2	7,0	6,1	21,2	697,9
GBU_B4	27,1	0,0	1,0	0,2	19,0	0,3	0,0	0,8	153,4	0,0	3,4	0,0	0,0	43,9	0,1	12,1	2,5	18,1	11,6	7,3	21,8	644,1

Tabelle 21: Konzentrationen der einzelnen Substanzen der Großversuche der LWG; alle Angaben in µg/l; 0,0µg/l entspricht nicht nachgewiesen



B1	3302,8	329,4	8,8	0,0	267,4	1,4	7,4	0,0	0,0	0,0	38,9	31,8	11,3	0,0	156,4	0,5	76,3	1,7	39,1	29,6	201,7	33,8	1596,8	Syngaaldehyd	
B2	405,3	57,4	3,9	0,0	77,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	13,1	14,9	20,6	0,0	93,5	0,0	21,1	6,9	17,1	13,8	490,8	24,9	777,5	2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol	
B3	1427,8	206,4	24,5	6,9	405,7	45,8	92,7	0,0	0,0	0,0	133,7	104,2	26,2	0,0	257,1	21,6	132,2	2,9	31,5	162,2	87,1	46,3	2379,2		
B4	270,0	39,0	9,6	5,0	145,6	0,5	111,5	0,0	0,0	0,0	152,5	22,1	12,2	6,4	180,7	9,1	60,3	2,2	26,8	80,8	132,3	29,9	1590,6		
B5	381,9	3,8	16,5	0,0	113,0	0,6	47,5	0,0	4,2	3,7	233,1	57,8	26,2	7,3	154,4	8,3	65,0	2,4	19,0	62,1	287,8	48,9	1930,5		
B6	576,9	58,6	3,9	0,3	80,4	0,0	4,9	0,0	3,7	27,2	107,8	12,4	6,7	0,0	81,0	0,7	57,4	1,9	36,2	17,0	163,1	25,7	1058,2		
B7	2552,4	308,3	3,9	0,0	366,9	0,0	51,2	2,7	2,7	0,0	53,5	13,0	6,6	0,0	100,9	4,2	19,4	2,9	10,4	39,0	32,3	26,6	1510,3		
B8	2609,0	202,8	5,4	2,8	100,1	0,3	13,1	2,4	0,0	0,0	82,8	21,3	7,5	0,0	236,5	0,0	66,1	2,4	43,1	41,1	388,6	27,4	2758,4		
B9	1537,8	116,0	8,1	2,6	0,0	0,6	68,0	0,0	0,0	39,2	40,8	5,0	2,5	0,1	79,2	0,3	13,3	0,7	15,7	20,7	23,2	23,8	966,2		
B10	1967,4	153,8	0,0	0,4	286,5	1,3	26,6	2,6	0,0	0,0	89,8	26,4	19,6	0,0	88,2	1,5	18,8	3,0	11,4	36,0	347,5	32,0	1450,8		
B11	294,2	101,1	7,1	3,6	102,5	1,2	38,8	0,0	1,3	180,1	38,1	24,2	21,7	0,0	212,6	6,1	58,6	1,8	33,4	55,8	237,2	38,9	2641,1		
B12	690,9	76,1	12,7	0,0	302,5	0,0	12,6	0,0	0,0	261,1	25,1	15,0	16,3	0,0	133,9	10,6	37,7	0,0	31,8	58,0	184,7	36,6	2184,7		
B13	918,0	53,8	13,5	0,0	140,4	0,0	149,3	4,2	2,0	304,0	86,5	18,1	15,0	0,3	274,8	3,0	95,9	4,3	31,6	130,5	285,5	40,3	1917,4		
B14	2920,4	396,4	24,3	10,7	317,5	39,6	152,9	2,2	7,3	233,2	37,1	13,5	10,5	0,0	100,0	0,0	47,9	2,8	29,8	19,0	303,8	31,2	984,3		
B15	934,3	384,0	6,8	3,0	707,7	8,7	49,9	0,0	0,0	86,8	64,9	18,5	7,3	5,8	102,5	3,5	17,0	0,0	22,4	44,7	38,2	29,7	1768,9		
B16	35,5	0,3	13,8	0,0	0,0	1,8	16,0	0,0	0,0	47,4	42,7	2,6	12,9	5,6	134,1	0,5	92,0	2,5	16,8	39,9	264,7	40,6	979,1		
B17	713,3	9,3	6,3	0,0	169,4	0,0	6,7	0,0	3,3	86,1	25,7	13,9	4,7	0,0	105,3	1,3	37,0	1,0	42,6	45,2	678,2	28,3	982,6		
B18	461,7	93,4	7,9	0,0	142,9	0,4	75,7	0,0	72,6	17,8	2,6	2,6	20,8	0,0	91,3	0,0	13,0	3,1	10,8	7,8	21,9	26,0	1663,4		
B19	1259,4	134,4	13,6	0,0	87,4	0,7	59,8	0,0	0,0	103,9	29,7	10,8	6,6	0,0	113,5	1,6	13,9	0,0	12,2	38,5	238,1	27,2	1122,2		
B20	84,0	0,0	1,2	0,0	75,7	0,0	82,6	0,0	0,0	182,8	12,9	21,5	21,5	0,0	77,1	0,9	25,7	1,8	21,5	16,9	55,0	24,3	1122,6		
B21	1647,7	34,5	15,0	0,0	38,8	0,7	97,6	0,0	141,8	71,5	7,1	6,1	6,6	0,0	80,4	0,0	17,0	0,0	37,6	32,2	20,9	25,7	1456,8		
B22	0,0	0,0	3,9	0,0	32,8	0,6	0,0	0,0	0,4	37,3	11,2	11,2	5,8	0,0	72,3	0,0	47,0	1,0	14,5	10,3	266,0	25,1	1183,8		
B23	707,0	76,0	3,0	0,0	223,5	1,7	13,1	0,0	23,3	25,3	1,5	5,8	11,0	0,0	5,1	0,0	6,4	3,2	8,4	7,9	3,3	21,7	710,9		
B24	75,6	0,9	4,8	0,0	33,1	0,0	80,5	0,0	0,0	169,2	6,3	1,5	5,8	0,0	46,9	0,0	33,2	2,8	26,6	8,5	11,4	22,8	790,2		
B25	0,0	0,0	0,7	0,0	18,8	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
B26	0,0	0,0	2,8	0,0	18,8	0,3	80,5	0,0	0,0	169,2	6,3	1,5	5,8	0,0	46,9	0,0	33,2	2,8	26,6	8,5	11,4	22,8	790,2		

Tabelle 22: Konzentrationen der einzelnen Substanzen der Barriqueweine; alle Angaben in µg/l; 0,0µg/l entspricht nicht nachgewiesen

## 9.2 Daten zu PCA und SIMCA

Score-Plot Chips medium toasted			Loading-Plot Chips medium toasted		
	PC1	PC2		PC1	PC2
WW_4M3	-2,0070	1,5610	Furfural	0,4200	-0,3620
WW_4M7	-1,7560	1,3640	5-Methylfurfural	0,2060	-0,2220
WW_4M14	-0,1980	0,0913	Guaiacol	0,0130	0,0228
WW_4M28	1,8580	0,4750	4-Methylguaiacol	0,1060	0,0126
WW_4M42	3,5910	1,2450	5-(Hydroxymethyl)-furfural	0,4510	-0,1030
WW_8M3	-2,3390	-0,2720	4-Ethylguaiacol	0,0192	-0,0033
WW_8M7	-1,4150	-1,0510	E-Whiskylacton	0,1150	0,2420
WW_8M14	0,0384	-1,2830	5-Acetoxymethyl-2-furaldehyd	0,0099	0,0925
WW_8M28	0,6870	-1,6400	4-Vinylguaiacol	-0,3740	-0,0089
WW_8M42	1,5410	-0,4910	Z-Whiskylacton	0,1330	0,1760
			2,6-Dimethoxyphenol	0,0634	0,0875
			Eugenol	0,0741	0,0286
			4-Propylguaiacol	-0,0307	0,0062
			Vanillin	0,4230	-0,0942
			Isoeugenol	0,2120	0,1410
			Acetovanillon	0,1330	0,1400
			δ-Decalacton	-0,0113	-0,0171
			Methylvanillat	0,0585	-0,4980
			1-(4-Hydroxy-3methylphenyl)-2-propanon	0,2220	0,1110
			Ethylvanillat	0,2480	0,1470
			2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol	0,1090	0,0577
			Syringaaldehyd	0,1320	0,7840

Tabelle 23: Daten zu PCA „Chips medium toasted“

Score-Plot Chips heavy toasted			Loading-Plot Chips heavy toasted		
	PC1	PC2		PC1	PC2
WW_4H3	-3,1790	0,0699	Furfural	0,3480	-0,2730
WW_4H7	-2,5230	0,3690	5-Methylfurfural	0,1740	-0,1550
WW_4H14	-1,6480	1,1630	Guaiacol	0,0747	-0,1400
WW_4H28	-0,0296	1,4460	4-Methylguaiacol	0,1550	-0,1380
WW_4H42	1,6100	1,5660	5-(Hydroxymethyl)-furfural	0,2370	0,5040
WW_8H3	-2,3150	-1,5500	4-Ethylguaiacol	0,0367	-0,0094
WW_8H7	-0,7690	-1,3890	E-Whiskylacton	0,1290	-0,1090
WW_8H14	1,1700	-0,9030	5-Acetoxymethyl-2-furaldehyd	0,1260	-0,1990
WW_8H28	2,8710	-0,3630	4-Vinylguaiacol	-0,2990	-0,2780
WW_8H42	4,8140	-0,4090	Z-Whiskylacton	0,1150	0,0895
			2,6-Dimethoxyphenol	0,2060	-0,3060
			Eugenol	0,0919	0,1510
			4-Propylguaiacol	0,0000	0,0000
			Vanillin	0,3570	0,0549
			Isoeugenol	0,2170	0,4670
			Acetovanillon	0,2160	-0,0366
			δ-Decalacton	-0,0110	-0,0305
			Methylvanillat	0,0467	0,0133
			1-(4-Hydroxy-3methylphenyl)-2-propanon	0,2990	-0,1790
			Ethylvanillat	0,2760	0,1530
			2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol	0,2330	0,0901
			Syringaaldehyd	0,3620	-0,2600

Tabelle 24: Daten zu PCA „Chips heavy toasted“

Score-Plot Chips klein			Loading-Plot Chips klein		
	PC1	PC2		PC1	PC2
WW_4M3	-2,8960	-0,8500	Furfural	0,3780	0,1330
WW_4M7	-2,9010	-0,3580	5-Methylfurfural	0,2100	0,1830
WW_4M14	-2,2570	0,4320	Guaiacol	0,1090	-0,0893
WW_4M28	-1,4630	1,5190	4-Methylguaiacol	0,0867	0,2000
WW_4M42	-0,7580	2,3440	5-(Hydroxymethyl)-furfural	0,0496	0,6630
WW_4H3	0,2900	-1,8320	4-Ethylguaiacol	0,0415	-0,0155
WW_4H7	0,8610	-1,4190	E-Whiskylacton	-0,0420	0,2380
WW_4H14	1,6240	-0,9110	5-Acetoxy-methyl-2-furaldehyd	0,1280	-0,0961
WW_4H28	3,0210	0,0819	4-Vinylguaiacol	-0,1620	-0,4860
WW_4H42	4,4800	0,9950	Z-Whiskylacton	-0,0610	0,2640
			2,6-Dimethoxyphenol	0,2290	-0,1480
			Eugenol	0,1170	0,0362
			4-Propylguaiacol	-0,0208	-0,0040
			Vanillin	0,3750	-0,0328
			Isoeugenol	0,3130	-0,0413
			Acetovanillon	0,2280	-0,0433
			δ-Decalacton	-0,0060	-0,0192
			Methylvanillat	0,0528	0,0470
			1-(4-Hydroxy-3methylphenyl)-2-propanon	0,3160	-0,0941
			Ethylvanillat	0,2900	0,0421
			2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol	0,2430	-0,0392
			Syringaaldehyd	0,3720	-0,2130

Tabelle 25: Daten zu PCA „Chips klein“

Score-Plot Chips groß			Loading-Plot Chips groß		
	PC1	PC2		PC1	PC2
WW_8M3	-3,0330	-0,6490	Furfural	0,3420	-0,0391
WW_8M7	-2,6590	-0,5230	5-Methylfurfural	0,1840	0,0096
WW_8M14	-2,2430	0,5620	Guaiacol	0,1480	-0,1000
WW_8M28	-2,1940	1,1110	4-Methylguaiacol	0,1630	-0,0420
WW_8M42	-2,0220	1,6260	5-(Hydroxymethyl)-furfural	-0,0950	0,7510
WW_8H3	0,1700	-1,8090	4-Ethylguaiacol	0,0579	0,0088
WW_8H7	1,2030	-1,3620	E-Whiskylacton	0,1110	0,0838
WW_8H14	2,5140	-0,4470	5-Acetoxy-methyl-2-furaldehyd	0,1950	-0,1170
WW_8H28	3,5550	0,2830	4-Vinylguaiacol	-0,2160	-0,4990
WW_8H42	4,7090	1,2090	Z-Whiskylacton	0,0236	0,2510
			2,6-Dimethoxyphenol	0,2650	-0,1270
			Eugenol	0,1070	0,0896
			4-Propylguaiacol	-0,0127	-0,0155
			Vanillin	0,3360	0,0705
			Isoeugenol	0,2780	0,1370
			Acetovanillon	0,2490	-0,0168
			δ-Decalacton	-0,0106	-0,0159
			Methylvanillat	0,0470	0,0527
			1-(4-Hydroxy-3methylphenyl)-2-propanon	0,3090	-0,0628
			Ethylvanillat	0,2830	0,0896
			2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol	0,2480	0,0540
			Syringaaldehyd	0,3430	-0,1510

Tabelle 26: Daten zu PCA „Chips groß“

## Score-Plot alle Ansätze

## Loading-Plot alle Ansätze

	PC1	PC2		PC1	PC2
WW_4M3	-2,7080	-0,8060	Furfural	0,3560	0,0095
WW_4M7	-2,6430	-0,4300	5-Methylfurfural	0,1940	0,0865
WW_4M14	-2,1600	0,4490	Guaiacol	0,1360	-0,0978
WW_4M28	-1,5610	1,4710	4-Methylguaiacol	0,1420	0,0646
WW_4M42	-0,9930	2,3410	5-(Hydroxymethyl)-furfural	-0,0421	0,7380
WW_4H3	-0,2440	-1,5900	4-Ethylguaiacol	0,0515	-0,0049
WW_4H7	0,2780	-1,1770	E-Whiskylacton	0,0612	0,1490
WW_4H14	0,8990	-0,5030	5-Acetoxymethyl-2-furaldehyd	0,1780	-0,1130
WW_4H28	2,0430	0,4370	4-Vinylguaiacol	-0,1980	-0,5040
WW_4H42	3,1610	1,3290	Z-Whiskylacton	-0,0111	0,2580
WW_8M3	-3,1020	-0,8210	2,6-Dimethoxyphenol	0,2600	-0,1440
WW_8M7	-2,6960	-0,6170	Eugenol	0,1040	0,0731
WW_8M14	-2,1940	0,5300	4-Propylguaiacol	-0,0150	-0,0111
WW_8M28	-2,1180	1,0490	Vanillin	0,3550	0,0203
WW_8M42	-1,9040	1,5230	Isoeugenol	0,2740	0,0774
WW_8H3	0,6060	-1,9380	Acetovanillon	0,2450	-0,0292
WW_8H7	1,7400	-1,5740	δ-Decalacton	-0,0073	-0,0189
WW_8H14	3,2390	-0,6300	Methylvanillat	0,0483	0,0507
WW_8H28	4,5370	-0,0175	1-(4-Hydroxy-3methylphenyl)-2-propanon	0,3180	-0,0829
WW_8H42	5,8210	0,9750	Ethylvanillat	0,2870	0,0760
			2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol	0,2480	0,0115
			Syringaaldehyd	0,3610	-0,1740

Tabelle 27: Daten zu PCA „Chips alle Ansätze“

Score-Plot aller untersuchter Proben

Loading-Plot aller untersuchter Proben

	PC1	PC2		PC1	PC2
WW_000	-2,3910	-0,8180	Furfural	0,3440	0,0606
WW_4M3	0,5170	-0,8320	5-Methylfurfural	0,2980	0,1110
WW_4M7	0,3900	-0,8330	Guaiacol	0,1280	0,1190
WW_4M14	0,8050	-0,8280	4-Methylguaiacol	0,1380	-0,0356
WW_4M28	1,2730	-0,7720	5-(Hydroxymethyl)-furfural	0,2900	-0,0195
WW_4M42	1,7390	-0,5560	4-Ethylguaiacol	0,0788	0,1320
WW_4H3	2,1660	-0,9820	E-Whiskylacton	0,0188	0,4680
WW_4H7	2,3430	-1,0540	5-Acetoxymethyl-2-furaldehyd	0,2220	-0,1720
WW_4H14	2,8010	-1,0820	Z-Whiskylacton	0,0166	0,5740
WW_4H28	3,6310	-1,0970	2,6-Dimethoxyphenol	0,2460	0,1510
WW_4H42	4,4120	-1,0110	Eugenol	0,1020	0,1760
WW_8M3	0,3390	-0,8500	4-Propylguaiacol	-0,0061	0,0322
WW_8M7	0,4610	-0,8850	Vanillin	0,3510	-0,2070
WW_8M14	0,8000	-0,8650	Isoeugenol	0,2400	-0,2030
WW_8M28	0,8880	-0,8470	Acetovanillon	0,2330	0,1680
WW_8M42	1,0930	-0,7520	$\delta$ -Decalacton	0,0110	0,0019
WW_8H3	2,5930	-0,8330	Methylvanillat	0,0568	0,1420
WW_8H7	3,3580	-0,8870	1-(4-Hydroxy-3methylphenyl)-2-propanon	0,3180	0,0194
WW_8H14	4,2720	-0,8020	Ethylvanillat	0,1050	0,3890
WW_8H28	5,1500	-1,0200	2,6-Dimethoxy-4-(2-propenyl)-phenol	0,2440	-0,0445
WW_8H42	6,1060	-0,6770	Syringaaldehyd	0,3680	-0,1800
WW_AE_28	0,2230	-1,2600			
WW_FE_28	9,8350	-1,0580			
WBU_A1	-2,5770	-0,9660			
WBU_A2	-2,5220	-0,9690			
WBU_A3	-2,4170	-0,9850			
WBU_A4	-2,2600	-0,9930			
WBU_B1	-2,5800	-0,9560			
WBU_B2	-2,5050	-0,9650			
WBU_B3	-2,4160	-0,9830			
WBU_B4	-2,2640	-0,9810			
GBU_A1	-2,5740	-0,9360			
GBU_A2	-2,5260	-0,9370			
GBU_A3	-2,4330	-0,9310			
GBU_A4	-2,3400	-0,9760			
GBU_B1	-2,8590	-0,8420			
GBU_B2	-2,4870	-0,9170			
GBU_B3	-2,4640	-0,9060			
GBU_B4	-2,4040	-0,8900			
B1	1,1630	1,0260			
B2	-1,3400	0,8490			
B3	2,5840	2,8030			
B4	-0,6320	1,9570			
B5	-0,1660	2,5820			
B6	-1,3010	0,3750			
B7	0,2190	0,7840			
B8	-0,0572	0,5130			
B9	-0,0062	1,9010			
B10	-0,8130	-0,1290			
B11	-0,9220	2,1770			
B12	0,2200	1,9350			
B13	-0,3810	2,0050			
B14	2,9410	5,0260			
B15	0,8630	2,7280			
B16	-1,4980	1,0710			
B17	-1,1960	0,9580			
B18	-0,4110	0,9760			
B19	-0,2180	2,5940			
B20	-2,0520	-0,7900			
B21	-0,8490	1,0220			
B22	-1,8360	1,5800			
B23	-1,2040	0,8390			
B24	-1,7240	0,2600			
B25	-2,4770	-0,6410			
B26	-2,0810	1,3330			

Tabelle 28: Daten zu PCA „alle untersuchten Proben“

### Si-Hi-Plot "Modell Barrique"

	<b>Leverage</b>	<b>Sample to Model Distance</b>
WW_4H7	2,3010	2,1930
WW_8M42	0,7020	1,5400
WBU_B2	0,2570	0,1890
GBU_B2	0,2490	0,2030
B6	0,1180	0,2640
B24	0,1400	0,2060

Tabelle 29: Daten zu Si-Hi-Plot „Modell Barrique“

### Si-Hi-Plot "Modell Chips"

	<b>Leverage</b>	<b>Sample to Model Distance</b>
WW_4H7	0,1420	0,1200
WW_8M42	0,2030	0,1070
WBU_B2	1,0250	0,4280
GBU_B2	1,0250	0,4190
B6	1,3160	1,0060
B24	1,8030	1,1890

Tabelle 30: Daten zu Si-Hi-Plot „Modell Chips“

### Si-Hi-Plot "Modell unbehandelt"

	<b>Leverage</b>	<b>Sample to Model Distance</b>
WW_4H7	372,63	6,6010
WW_8M42	369,80	6,8790
WBU_B2	0,30	0,0178
GBU_B2	0,20	0,0579
B6	234,00	2,5850
B24	254,30	3,8420

Tabelle 31: Daten zu Si-Hi-Plot „Modell unbehandelt“

### Modellabstände bezogen auf "Modell unbehandelt"

SIMCA Barrique	918
SIMCA Chips	6889
SIMCA unbehandelt	1

Tabelle 32: Daten zu Modellabständen