



Chemisches und  
Veterinäruntersuchungsamt  
Karlsruhe

# Authentifizierung von Absinth



SIGMA-ALDRICH



D.W. Lachenmeier<sup>1</sup>, J. Emmert<sup>2</sup>, G. Sartor<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Karlsruhe, D <sup>2</sup>Fluka Production GmbH, Buchs, CH

## EINLEITUNG

Absinth ist eine Bittersprituose, deren charakteristischer Geschmack in der Hauptsache von den Extraktivstoffen der Wermutpflanze (*Artemisia absinthium* L.) herrühren sollte. Nach der kürzlichen Aufhebung des Absinthverbots ist eine Reihe minderwertiger Produkte auf dem Markt erhältlich, bei denen organoleptisch keine Merkmale der Wermutpflanze feststellbar sind [1]. Der Inhaltsstoff Thujon, ein bicyclisches Monoterpen, das in der ätherischen Ölfraction des Wermutkrautes vorkommt, wurde in der Vergangenheit als Markersubstanz für die Authentizität von Absinth vorgeschlagen. Aufgrund der Toxizität von Thujon und der damit verbundenen Begrenzung auf 35 mg/kg in Bitterspirituen (Aromenverordnung) wurden jedoch Verfahren entwickelt, diese Substanz im Absinth zu vermeiden, darüber hinaus ist abhängig vom Anbaugebiet auch thujonfreies Wermutkraut erhältlich.

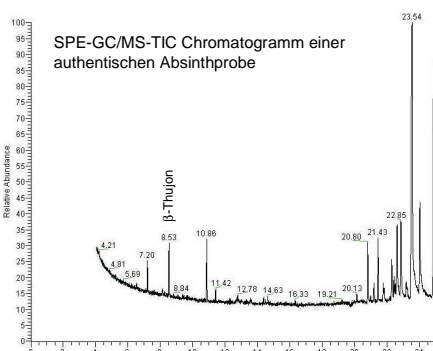
In der vorliegenden Arbeit werden daher erstmals weitere charakteristische Bestandteile des Wermutöls in Absinth bestimmt und die Analyseergebnisse einer multivariaten statistischen Auswertung zur Authentifizierung der Spirituose unterworfen. Eine effiziente Probenvorbereitung mittels Festphasenextraktion (SPE) über C18-Kartuschen wurde angewendet [2], um die lipophilen Terpene von der störenden Probenmatrix (z.B. Farbstoffe, Zucker) abzutrennen. Die Trennung und Quantifizierung der Komponenten erfolgte mittels Gaschromatographie in Verbindung mit Massenspektrometrie (GC/MS).

## MATERIALIEN UND METHODEN

**Materialien.** Terpenstandardsubstanzen (Anethol,  $\alpha$ -Thujon,  $\alpha$ - $\beta$ -Thujon-Isomergemisch, Fenchon, Linalool) wurden von Fluka (Buchs, Schweiz), Festphasenextraktions-Säulen (DSC-18) von Supelco (Bellefonte PA, USA) bezogen. Wermut (*Artemisia absinthium* L., Asteraceae) stammte von Caesar & Loretz (Hilden), Bombastus-Werke (Freital) und Heinrich Klenk (Schwebheim).

**SPE.** 1 ml C18-SPE-Säulen wurden zur Trennung der lipophilen Terpene von der Spirituosen-Matrix verwendet. Im ersten Schritt wurde die Säule mit 1 ml Methanol aktiviert, gefolgt von einer Konditionierung mit 1 ml Wasser. Danach wurden 1 ml Absinth-Probe, die zuvor mit 350  $\mu$ l Cyclohexanon (20  $\mu$ g/ml) als internem Standard dotiert wurde, auf die Säule gegeben, mit 1 ml Wasser gewaschen und unter Vakuum zur Trockene gesaugt. Nach diesem Reinigungsschritt wurde die Probe mit 1 ml Methanol direkt in ein GC-Vial eluiert [2].

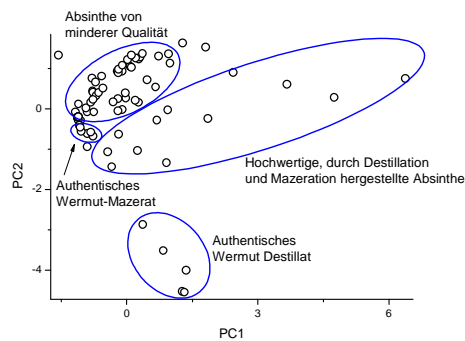
**GC/MS.** Für die GC/MS-Analysen wurde ein Polaris Q Ionenfallen-Massenspektrometer in Kombination mit einem Trace 2000 GC (Thermo Electron, Dreieich) verwendet. Als Trennsäule diente eine 30 m J&W DB-5 (5% Diphenyl-, 95% Dimethylpolysiloxan) Kapillarsäule, 0,25 mm ID, 0,25  $\mu$ m Filmdicke (Agilent Technologies, Waldbronn). Temperaturprogramm: Starttemperatur 50°C, mit 10°/min auf 250°C. Trägergas: Helium. 1  $\mu$ l Probe wurde mit einem Splitverhältnis von 1:20 injiziert. MS-Bedingungen: Fullscanspektren wurden zwischen m/z 50-500 aufgenommen, um eine Bibliothekssuche zu ermöglichen.



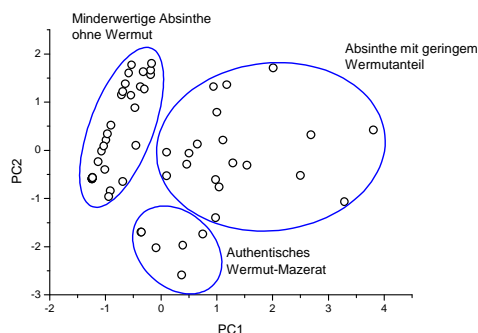
## ERGEBNISSE UND DISKUSSION

### 1. Multivariate statistische Auswertung

Neben  $\alpha$ - und  $\beta$ -Thujon konnten als weitere Hauptbestandteile der 70 untersuchten Absinthproben die Monoterpene Fenchon und Linalool, sowie bei anisaltigen Absinthproben auch Anethol nachgewiesen werden. Die später (zwischen RT 12-18 min) eluierenden Sesquiterpene (z.B. Azulene, Caryophyllen) wurden als Gruppe gemeinsam integriert und ausgewertet. Für die multivariate statistische Auswertung mittels Hauptkomponentenanalyse (Principal component analysis, PCA) wurden die Quotienten aus Peakfläche der Analyten und Peakfläche des internen Standards berechnet und mit dem Programm Unscrambler v9.0 (Camo, Oslo, Norwegen) verarbeitet. Vor der PCA wurden die Daten mittels Standardisierung präprozessiert. Im PCA Scores-Plot aller Absinthe zeigt sich eine klare Gruppierung von hochwertigen, nach Herstellerangaben durch Destillation von Wermutkraut hergestellten Absinthproben, sowie von Absinthproben minderer Qualität die mit geringem Anteil kommerziell erhältlicher Wermutextrakte, Wermutmazerate, Wermutöle oder ganz ohne Wermutzusatz hergestellt wurden. Der Vergleich mit den Ergebnissen der Analyse von Wermut-Destillaten und -mazeraten von Wermutkraut verschiedener Hersteller bestätigt die Zuordnung der Gruppen. Im PCA-Influenceplot zeigte sich, daß  $\alpha$ -Thujon und Linalool den größten Einfluß auf PC1 besitzen,  $\beta$ -Thujon und Anethol sind für die Variabilität von PC2 verantwortlich. Fenchon hat nur einen sehr geringen Einfluß auf die PCA.



Zur weiteren Unterscheidung der Absinthe minderer Qualität wurde eine PCA nur dieser Absinthe und der Wermut-Mazerate durchgeführt. Im PCA Scores-Plot clustern zum einen die minderwertigen Absinthe, die offenbar ohne Wermutanteil hergestellt wurden, und zum anderen die Absinthe mit einem geringen Wermutanteil.



Nach diesen Ergebnissen lassen sich Absinthe in 3 Kategorien einteilen:

1. Hochwertige Produkte mit Wermutdestillatanteil
2. Mittlere Qualitäten mit geringem Wermutanteil
3. Minderwertige Absinthe ohne Wermut

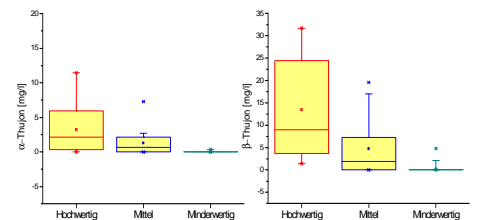
### 2. Korrelation mit Sensorik

Weiterhin wurden die Absinthe organoleptisch untersucht und die Ergebnisse mit den analytischen Daten korreliert. Der typische Bittergeschmack konnte mit keinem der Analyten in Verbindung gebracht werden. Hier sind weitergehende Untersuchungen zur Analytik der typischen Wermutbitterstoffe erforderlich. Der typische aromatische, an Kamille erinnernde, kräuterige Wermutgeschmack, sowie eine insgesamt hohe Qualität ergaben die beste Korrelation mit  $\alpha$ - und  $\beta$ -Thujon. Der Louche-Effekt (Trübung bei Verdünnung mit Wasser) korrelierte am besten mit Linalool und den Sesquiterpenen.

McNemar- $\kappa$ [%]	$\alpha$ -Thujon	$\beta$ -Thujon	Linalool	Fenchon	Anethol	Sesquiterpene
Bittergeschmack	0	0	0	0	0	0
Wermutgeschmack	41	27	18	6	11	24
Louche-Effekt	25	20	47	6	33	45
Hohe Qualität	55	51	32	28	21	0,8

### 3. Quantitative Auswertung

Die Korrelation der Qualität mit den Thujongehalten konnte auch quantitativ bestätigt werden. Die über externe Eichung quantifizierten  $\alpha$ - und  $\beta$ -Thujon-Gehalte zeigten jeweils signifikante Unterschiede zwischen den beschriebenen 3 Kategorien (ANOVA  $p < 0,05$ ).



Die vorliegende Untersuchung bestätigt damit die Angaben des Schweizer Lebensmittelbuchs, daß Thujon-Gehalte über 2 mg/l auf Mitverwendung von Wermut hinweisen. Maßnahmen zur Vermeidung von Thujon oder die Verwendung von thujonfreiem Wermutkraut konnten bei keinem der untersuchten Produkte belegt werden.

Zur weiteren Authentizitätskontrolle kann das Verhältnis der beiden Thujon-Isomere zueinander herangezogen werden, weil es Rückschlüsse auf die Herkunft des Thujons erlaubt. Von einer Herkunft aus der Wermutpflanze kann ausgegangen werden, wenn der  $\beta$ -Thujon-Anteil eines Absinthes deutlich überwiegt. Bei den Sorten, in denen das  $\alpha$ -Isomere überwiegt, ist das Thujon nicht oder nicht ausschließlich aus dem Wermut gewonnen worden. Vermutlich liegt dann eine Verfälschung mit Bestandteilen der Zeder, die bis 85%  $\alpha$ -Thujon enthalten können, oder anderen thujonhaltigen Pflanzen vor. Von den untersuchten Produkten französischer Herkunft wiesen allerdings 6 untypischerweise einen größeren  $\alpha$ -Thujon-Anteil auf, die ansonsten als hochwertig zu beurteilen waren. Für das verschobene Isomerenverhältnis könnte ein anderer Chemotyp der Pflanze *Artemisia absinthium* L. verantwortlich sein.

Von den 70 untersuchten Absinthproben wiesen 41 einen Gesamt-Thujongehalt von weniger als 2 mg/l auf. Diese minderwertigen Produkte wären von der amtlichen Lebensmittelüberwachung als "irreführend bezeichnet" zu beanstanden. Erfreulicherweise überschritt keines der untersuchten Produkte den europäischen Grenzwert von 35 mg/kg für Gesamtthujon.

Literatur:

1. D.W. Lachenmeier, W. Frank, C. Athanasakis, S.A. Padosch, B. Madea, M.A. Rothschild, L.U. Kröner (2004) Dtsch. Lebensm.-Rundsch. 100, 117-129.
2. J. Emmert, G. Sartor, F. Sporer, J. Gummersbach (2004) Dtsch. Lebensm.-Rundsch. 100, 352-356.