

# Bestimmung von $\alpha$ - und $\beta$ -Thujon in Spirituosen mittels Festphasenmikroextraktion (HS-SPME): Vergleich mit konventionellen Extraktionsmethoden

Norbert Schäfer<sup>1\*</sup> und Dirk W. Lachenmeier<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Landesuntersuchungsanstalt (LUA) für das Gesundheits- und Veterinärwesen Sachsen, Reichenbachstrasse 71-73, D-01192 Dresden

<sup>2</sup> Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt (CVUA) Karlsruhe, Weibenburger Str. 3, D-76187 Karlsruhe

## Zusammenfassung

Eine neue Methodenkombination aus Headspace-Festphasenmikroextraktion (Solid-Phase Microextraction, SPME) und Gaschromatographie (GC) zur Schnellbestimmung von Aromastoffen in Spirituosen wird vorgestellt. Nach Zugabe von Phosphatpufferlösung (pH 7) und Dicyclohexylmethanol als internem Standard werden die Proben für 5 min thermisch equilibriert (60 °C) und die Analyten danach 5 min mit Polydimethylsiloxan-SPME-Fasern aus dem Headspace extrahiert. Die Desorption erfolgt im Injektor des GC-Systems bei 220 °C. HS-SPME erlaubt neben der Bestimmung von  $\alpha$ -Thujon und  $\beta$ -Thujon bei Anwendung von Flammenionisationsdetektion den simultanen Nachweis der Aromastoffe Pulegon, Safrol, Isosafrol und bei Verwendung von massenspektrometrischer Detektion auch von  $\beta$ -Asaron. Die Methode zeigt für alle Analyten eine sehr gute Linearität mit Korrelationskoeffizienten über 0,98 und eine sehr gute Präzision mit Variationskoeffizienten zwischen 1,5 und 9,9%. Die Empfindlichkeit der Methode mit Bestimmungsgrenzen von weniger als 0,02 mg/l bei massenspektrometrischer Detektion ist ausreichend zur Kontrolle der Höchstmengen gemäß Aromenverordnung. Beim Vergleich der neuen HS-SPME/GC-Methode mit konventionellen Extraktionsverfahren wie Destillation, Flüssig-Flüssig-Extraktion oder Festphasenextraktion zeigt sich eine signifikante lineare Korrelation der Ergebnisse ( $R > 0.99$ ). Gegenüber den klassischen Methoden bietet HS-SPME eine wesentlich vereinfachte und verkürzte Probenvorbereitung, ohne Einsatz von Lösungsmitteln und mit minimalen Probenmengen, jedoch mit der gleichen Empfindlichkeit und Reproduzierbarkeit.

## Summary

A novel method combination using headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) and gas chromatography (GC) was developed for the rapid determination of flavourings in spirit drinks. After addition of phosphate buffer (pH 7) and dicyclohexylmethanol as internal standard, the samples were thermally equilibrated (60 °C) and the analytes were extracted from the headspace for 5 min using SPME fibres coated with polydimethylsiloxane. Desorption was done in the hot injection port of the GC system at 220 °C. Besides of the determination of  $\alpha$ -thujone and  $\beta$ -thujone, HS-SPME allowed the simultaneous analysis of the flavourings pulegone, safrole, isosafrole using flame ionisation detection, and additionally  $\beta$ -asarone using mass spectrometric detection. For all analytes, the method exhibited good linearity with regression coefficients higher than 0.98 and the precision resulted in ranges between 1.5 and 9.9%. The sensitivity of the method with limits of quantitation below 0.02 mg/l allowed the control of the legal maximum limits for flavourings. The comparison of the new HS-SPME/GC method with conventional extraction techniques like distillation, liquid-liquid-extraction of solid-phase extraction revealed a significant linear correlation of the results ( $R > 0.99$ ). In contrast to those classical procedures, HS-SPME accomplished a significantly shortened and simplified sample preparation without the use

of solvents and with minimal sample quantities, but still maintaining the same degree of sensitivity and reproducibility.

**Keywords:** Thujon, Aromastoffe, Absinth, Extraktion, Festphasenmikroextraktion, SPME, Spirituosen / Thujone, flavourings, absinthe, extraction, solid-phase microextraction, SPME, spirit drink

## 1 Einleitung

Als Alternative zu konventionellen Probenvorbereitungsmethoden wie Destillation, Flüssig-Flüssig-Extraktion (FFE) oder Festphasenextraktion (SPE) wird in dieser Arbeit eine Festphasenmikroextraktionsmethode (Solid Phase Micro Extraction, SPME) zur Bestimmung von Aromastoffen in Spirituosen vorgestellt. SPME zeichnet sich insbesondere durch Schnelligkeit und einfache Handhabung aus. Die lösungsmittelfreie und damit umweltfreundliche Absorptions-/Desorptionstechnik ist ein weiterer großer Vorteil. In einer Vielzahl von Publikationen wurde die Eignung der SPME für alle Bereiche der Lebensmittelanalytik beschrieben<sup>1</sup>.

In Fortführung der Arbeiten von Kröner et al.<sup>2,3</sup> wurde an der LUA Sachsen im Rahmen einer Praktikumsarbeit<sup>4</sup> eine einfache, routinetaugliche Methodenkombination aus Headspace (HS)-SPME und Gaschromatographie (GC) zur Bestimmung von Aromastoffen entwickelt. Als Ziel sollte eine möglichst große Anzahl an Aromastoffen simultan bestimmt werden, insbesondere die in der Aromenverordnung durch Höchstmengen beschränkte Stoffe<sup>5</sup>. Aufgrund der materiellen Ausstattung stand nur die manuelle Arbeitsweise zur Verfügung. Zur Detektion wurden sowohl Flammenionisation (GC/FID) als auch Massenspektrometrie (GC/MS) eingesetzt. Die Methode wurde für die Aromastoffe  $\alpha$ - und  $\beta$ -Thujon, Pulegon, Safrol, Isosafrol und  $\beta$ -Asaron in Spirituosen und weinhaltigen Getränken erfolgreich validiert. Im Anschluß daran erfolgte ein Methodenvergleich zwischen HS-SPME und konventionellen Extraktionsmethoden an Hand ausgewählter identischer Proben. Aufgrund immer wieder festgestellter Höchstmengenüberschreitungen bei der Modestituose Absinth<sup>3,6,7</sup> wurde hierbei der Fokus auf die Wermutinhaltstoffe  $\alpha$ - und  $\beta$ -Thujon gelegt.

\* Norbert Schäfer, E-Mail: norbert.schaefer@lua.sms.sachsen.de

## 2 Materialien und Methoden

### 2.1 HS-SPME

100 µl der Probe, 1,9 ml Sörensen Phosphatpufferlösung (pH 7) und 10 µl Dicyclohexylmethanol (ISTD,  $c = 20 \mu\text{g/ml}$ ) wurden in ein 4 ml Screw-Top-Vial pipettiert, in welchem sich ein Magnetrührstab befand. Nach Verschließen des Vials wurde es auf den schon auf Expositionstemperatur von 60 °C erwärmten Vial-Puck gestellt und 5 min thermisch equilibriert. Dabei wurde mit einer Geschwindigkeit von 750 U/min gerührt. Die Extraktion erfolgte durch fünfminütiges Exponieren der Faser im Headspace der Probe. Danach wurden die Analyten umgehend im Injektor des GC-Systems bei 220 °C thermisch von der Faser desorbiert (Dauer 10 min).

In gleicher Art und Weise wurde eine Mehrpunktkalibrierung nach der Internen Standardmethode durchgeführt. Die Probenauswertung erfolgte auf der Grundlage dieser Kalibrierung.

### 2.2 Geräte und Hilfsmittel

#### GC/FID

Zum Einsatz kam ein *Agilent* 5890 Serie II GC (split/splitless) mit Flammenionisationsdetektor (FID). Die Probenaufgabe erfolgte simultan mittels Graphpack Verteiler auf Säulen unterschiedlicher Polarität: DB WAXetr (60 m; ID 0,32 mm; Filmdicke 0,5 µm) und DB 5 (60 m; ID 0,32 mm; Filmdicke 1,0 µm). Splitless-Injektion (nach 2 min Umschalten auf Split), Injektor-Temperatur: 220 °C, Detektor-Temperatur: 250 °C, Temperaturprogramm: 60 °C (2 min), 7 °C/min auf 220 °C (15 min), Flow (He): 1,5 ml/min (94 kPa (60 °C))

#### GC/MS

Verwendet wurde ein GC/MS-System der Fa. *Agilent* (GC 5890 Serie II mit MSD 5972A Kapillargaschromatograph mit Elektronenionisationsdetektor (EID)). Säule: DB Wax (50 m; ID 0,32 mm; Filmdicke 0,5 µm), Splitless-Injektion (nach 2 min Umschalten auf Split), Injektor-Temperatur: 220 °C, Detektor-Temperatur: 280 °C, Temperaturprogramm: 60 °C (2 min), 7 °C/min auf 220 °C (8 min), 50 °C/min auf 250 °C (5 min), Flow (He): 1,5 ml/min (51 kPa (60 °C)) mit Pressure pulse: 122 kPa (1 min). Die Quantifizierung erfolgte im SIM-Mode. Für  $\alpha$ - und  $\beta$ -Thujon wurde das Target-Ion  $m/z$  81 sowie die Qualifier-Ionen  $m/z$  110 und 95 ausgewählt.

### 2.3 Methodenoptimierung

Die Methodenoptimierung erfolgte mit einer wässrig-alkoholischen  $\alpha$ -Thujon-Lösung. Getestet wurden zwei Fasertypen mit manuellem Faserhalter (Fa. *Supelco*): 100 µm Polydimethylsiloxan (PDMS) und 65 µm Polydimethylsiloxan/Divinylbenzen (PDMS/DVB).

Neben der Art der Faserbeschichtung wurden folgende Methodenparameter variiert und optimiert: Einstichtiefe, Liner-

art, Expositionszeit und -temperatur, Salzzugabe/pH-Wert, Desorptionsbedingungen. Da deuterierte Analoga der Analyten nicht zur Verfügung standen, wurden nachfolgende fünf Substanzen, welche bei der Aromastoffanalytik bereits Anwendung fanden, auf ihre Eignung zur Verwendung als Interner Standard getestet: Pelargonsäuremethylester (CAS-Nr. 1731-84-6), 1,2,4-Trimethoxybenzol (CAS-Nr. 135-77-3), Dicyclohexylmethanol (CAS-Nr. 32779-58-1), 2,6-Dimethylhept-5-en-2-ol (CAS-Nr. 4453-82-1) und Cyclodecanon (CAS-Nr. 1502-06-3).

## 3 Ergebnisse und Diskussion

### 3.1 Optimierung der HS-SPME-Methode

#### Faserbeschichtung

Zum Einsatz kamen die 100 µm PDMS und die 65 µm doppelbeschichtete PDMS/DVB-Faser. Die 100 µm PDMS Faser ist eine Art „Allround- Faser“. In zahlreichen Publikationen wird ihre Anwendung für die Bestimmung einer Vielzahl von organischen Komponenten beschrieben. Auch die doppelbeschichtete PDMS/DVB-Faser findet ein breites Anwendungsspektrum, da sie zusätzlich eine mittelpolare Komponente enthält. Bei unseren Untersuchungen wurde für  $\alpha$ - und  $\beta$ -Thujon bei matrixabhängigen Proben kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Fasern festgestellt. Die PDMS-Faser kam jedoch zur Anwendung, weil sie  $\beta$ -Asaron besser absorbiert als die PDMS/DVB-Faser.

#### Einstichtiefe

Die Einstichtiefe der Faser im Injektorblock besitzt einen erheblichen Einfluss auf die Empfindlichkeit der Messung. Es wurden drei verschiedene Einstellungen getestet. Bei einer Einstichtiefe der Nadel von 3 cm in den heißen Injektorport wurde die größte Empfindlichkeit festgestellt. Je tiefer die Faser in den heißen Injektorliner eingeführt wurde, desto niedriger lag der gemessene Response.

#### Art des GC-Inlet-Liners

Um möglichst scharfe Peaks mit sauberer symmetrischer und schlanker Form zu erhalten, wird seitens des Faserherstellers empfohlen, schmale Inlet-Liner mit 0,75 mm ID für die SPME zu benutzen. Dadurch wird die Trägergasgeschwindigkeit durch die Querschnittsverengung erhöht, verbunden mit einer verbesserten Refokussierung flüchtiger Bestandteile und einer Peakschärfung.

Diesen Effekt konnten wir nicht beobachten. Der von uns verwendete Standardliner mit einem Innendurchmesser von 4 mm erbrachte adäquate, d.h. zufriedenstellende Peakformen der Analyten.

#### Expositionszeit und -temperatur

Expositionszeit und Expositionstemperatur sind entscheidende Faktoren bei der SPME. Nur wenn die Faser ausreichend lange im Dampfraum über der Probe exponiert wird,

kann sichergestellt werden, dass sich ein Gleichgewicht zwischen Gasphase und Faserbeschichtung gebildet hat und somit ein Maximum an Analytmenge absorbiert wird. Abbildungen 1 und 2 verdeutlichen diese Abhängigkeit. Variiert wurde die Expositionszeit zwischen einer und 15 Minuten. Mit steigender Expositionszeit (bis 5 min) ist ein fast linearer Anstieg der Peakfläche zu verzeichnen. Danach ist nur noch ein geringfügiger Anstieg bei 10 und danach ein leichter Abfall bei 15 min erkennbar. Somit kann davon ausgegangen werden, dass bei einer Expositionszeit von 5 min bereits eine ausreichende Gleichgewichtseinstellung erzielt wurde.

Die optimale Expositionstemperatur liegt bei 50 °C. Da mit der hier vorgestellten Methode auch höhersiedende Analyten ( $\beta$ -Asaron) bestimmt werden sollten, wurde die etwas höhere Expositionstemperatur von 60 °C ausgewählt.

#### Salzzugabe/pH-Wert

Durch Verwendung eines Puffersystems (Phosphatpuffer nach Sörensen (pH 7)) konnte nahezu eine Verzehnfachung des Responses gegenüber ungepufferten Systemen festgestellt werden. Weitere zusätzliche Salzzugaben von 0,5 bis 10 % Kochsalz erbrachten dagegen keine Veränderungen.

#### Desorptionsbedingungen

Die Desorptionsbedingungen sollen generell so bemessen sein, dass die Analyten mit ausreichender Sicherheit von der Faser heruntergelöst werden können. Gewählt wurde eine Desorptionszeit von 10 min bei 220 °C. Unter diesen Bedingungen konnte durch Blindversuche gezeigt werden, dass die Analyten vollständig von der Faser abgelöst werden. Eine Beeinträchtigung der Faser durch die lange Zeit für die thermische Desorption wurde nicht festgestellt. Mit der PDMS-Faser konnten mehr als 250 Messungen durchgeführt werden, ohne dass relevant schlechtere Ergebnisse erzielt wurden als mit unbenutzten Fabrikaten. Die anfangs klare PDMS-Beschichtung zeigte zwar nach mehr als 200 Aufarbeitungen erste Verschleißspuren, wie etwa kleine seitliche Haarrisse oder kleine getrübe Stellen. Negative Auswirkungen auf die Einsatzfähigkeit konnten aber nicht nachgewiesen werden.

#### Wahl des Internen Standards

Zur Sicherstellung von reproduzierbaren quantitativen Ergebnissen ist der Einsatz eines Internen Standards bei der HS-SPME zwingend erforderlich<sup>8,9)</sup>. Von allen verwendeten Internen Standards erzielte Pelargonsäuremethylester (PME) den mit Abstand größten Response. Unter den gegebenen chromatographischen Bedingungen retendierte jedoch PME zur gleichen Zeit wie Fenchon, ein häufiger Begleitstoff in realen Proben. Auch für 2,6-Dimethylhept-5-en-2-ol wurde eine Koelution mit Fenchon beobachtet. Da anfangs lediglich eine Messung am FID-System angedacht war, schieden beide Substanzen als Interne Standards aus. Für das 1,2,4-Trimethoxybenzol wurde nahezu keine Extraktionsaus-

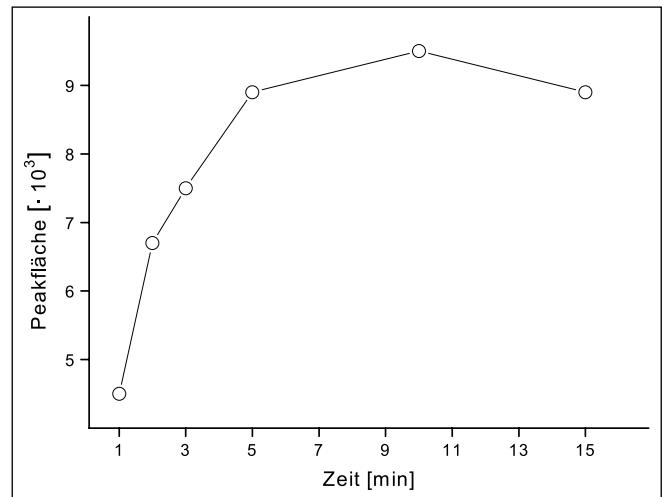


Abb. 1 Einfluss der Expositionszeit auf die Ausbeute von  $\alpha$ -Thujon bei der HS-SPME-Extraktion

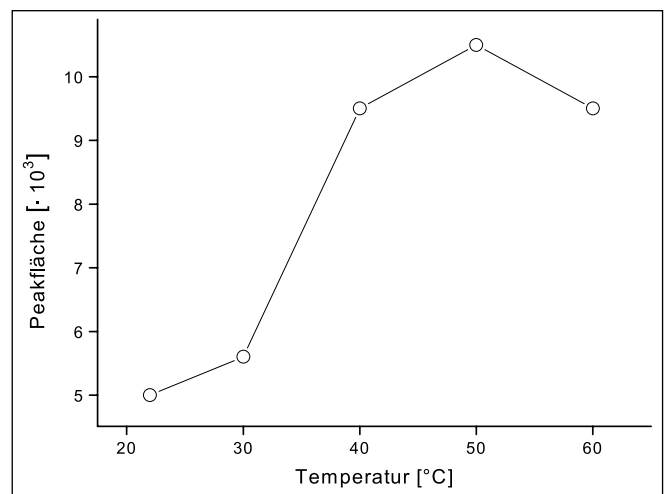


Abb. 2 Einfluss der Expositionstemperatur auf die Ausbeute von  $\alpha$ -Thujon bei der HS-SPME-Extraktion

beute ermittelt. Cyclodecanon retendiert fast zeitgleich mit Safrol, so dass auch hier die Verwendung ausgeschlossen war. Einzig Dicyclohexylmethanol (DHM) wurde den Anforderungen gerecht. Koelutionen waren nicht gegeben. Die Methodenentwicklung wurde daher mit DHM als internem Standard fortgeführt. Bei Einsatz eines MS-Systems bzw. anderer Trennsäulen ist jedoch auch die Verwendung von PME, Cyclodecanon und 2,6-Dimethylhept-5-en-2-ol denkbar.

#### 3.2 Validierungsergebnisse

Die Quantifizierung erfolgte anhand von Mehrpunktkalibrierung mit Internem Standard (Matrixkalibrierung). Über die gewählten Konzentrationsbereiche (0,24–23,6 mg  $\alpha$ -Thujon/l und 0,04–4,2 mg  $\beta$ -Thujon/l) wurde sowohl auf dem FID als auch auf dem MS eine sehr gute lineare Korrelation (Korrelationskoeffizient > 0,99) gefunden. Auch die übrigen Analyten zeigen ausreichende Linearität über den Kalibrierbereich (Korrelationskoeffizient > 0,98). Lediglich  $\beta$ -Asaron bildete bei der FID-Messung eine Ausnahme.

Tab. 1 Validierungsergebnisse für Absinth mit GC/FID (n = 10)

Analyt	Mittelwert x [mg/l]	Standardabweichung s	Variationskoeffizient	Vertrauensbereich Δx	Wiederholbarkeit r
α-Thujon	5,19	0,29	5,74	0,21	0,84
β-Thujon	1,27	0,12	9,91	0,06	0,21

Tab. 2 Validierungsergebnisse für Absinth mit GC/MS (n = 10)

Analyt	Mittelwert x [mg/l]	Standardabweichung s	Variationskoeffizient	Vertrauensbereich Δx	Wiederholbarkeit r
α-Thujon	5,25	0,29	5,55	0,21	0,82
β-Thujon	1,24	0,06	5,27	0,03	0,13

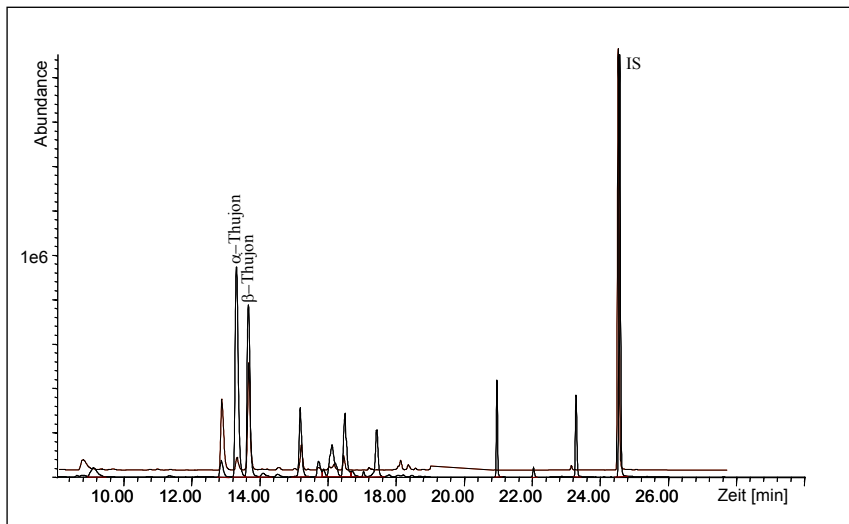


Abb. 3 GC/MS-Chromatogramm (SIM) authentischer Absinthproben mit α-Thujon-Konzentrationen von 6,30 und 0,34 mg/l und β-Thujon-Konzentrationen von 3,80 und 2,09 mg/l

Grund ist die geringe Messempfindlichkeit des β-Asaron. Demgegenüber wurde am MS eine wieder zufriedenstellende Korrelation erzielt.

Die Validierung umfasste die Ermittlung von Nachweis- und Bestimmungsgrenzen (NG/BG) und der Wiederholbarkeit sowie Wiederfindungsraten. Durch Mehrfachanalyse derselben Probe (Absinthe, Liköre), welche zusätzlich „aufgestockt“ wurde, konnte die laborinterne Wiederholbarkeit ermittelt werden. Exemplarisch sind in den Tabellen 1 und 2 Validierungsparameter für einen Absinth aufgelistet. Die restlichen Analyten besaßen ähnliche Präzisionen (Variationskoeffizient: 1,5 bis 9,0 %).

Wiederfindungsmessungen erfolgten an mehreren Spirituosen (Absinth, Liköre, Bittere) mit unterschiedlichen Dotierungskonzentrationen. Sowohl bei der Messung mittels GC/FID als auch bei der Messung mittels GC/MS wurden Wiederfindungsraten von 80–120 % aller Analyten vorgefunden. Speziell für α- und β-Thujon lagen die Wiederfindungsraten bei 95–107 %. Damit wird die sehr gute Extraktionsausbeute deutlich.

Die Ermittlung der Nachweis- und Bestimmungsgrenzen erfolgte nach DIN 32645<sup>10)</sup> (GC/MS) bzw. anhand der Signal/Rauschverhältnisse (GC/FID). Für die Ermittlung der

Verfahrensparameter am GC/MS wurden separate Kalibrierkurven im Bereich der zu erwartenden Nachweisgrenze erstellt. Damit wurde für α-Thujon eine NG von 6 µg/l und eine BG von 21 µg/l und für β-Thujon eine NG von 5 µg/l und eine BG von 19 µg/l ermittelt. Dies entspricht etwa einem Signal/Rauschverhältnis (s/r) von 4 für die NG und ein s/r von 10 für die BG.

Am GC/FID erfolgte eine vereinfachte Abschätzung über das Signal/ Rauschverhältnis. Hierbei wurden NG (4·s/r) von 0,1 mg α-Thujon/l und 0,05 mg β-Thujon/l bzw. BG (10·s/r) von 0,3 mg α-Thujon/l und 0,1 mg β-Thujon/l ermittelt. Die Empfindlichkeit der Methode übertrifft damit deutlich die Anforderungen für die Kontrolle der Höchstmengen beider Stoffe gemäß Aromenverordnung<sup>5)</sup>.

### 3.3 Vergleich mit konventionellen Extraktionsmethoden

Nach erfolgreicher Erstellung und Validierung der Methode wurden verschiedene Spirituosen mittels HS-SPME untersucht (Abb. 3) und vergleichende Untersuchungen mit herkömmlichen Methoden (SPE, FFE, Destillative Methode) durchgeführt. So wurden 19 Proben (Absinthe) aus dem Untersuchungsgut des CVUA Karlsruhe für vergleichende Messungen

herangezogen. Die Proben wurden nach der Methode von Emmert et al. mittels SPE<sup>7,11)</sup>, nach der Methode von Lachenmeier et al. mittels FFE<sup>12)</sup> sowie dem hier vorgestellten HS-SPME-Verfahren analysiert. Eine Übersicht der Messergebnisse gibt Tabelle 3.

Es bleibt festzustellen, dass zwischen den verwendeten Aufarbeitungsmethoden (FFE/SPE/SPME) eine hochsignifikante lineare Korrelation mit Korrelationskoeffizienten von mehr als 0,989 erzielt werden konnte (Tab. 4). Hervorragende Übereinstimmung lieferten auch die mittels GC/FID bzw. GC/MS ermittelten Daten der SPME bei den Einzelkomponenten α- und β-Thujon.

Außerdem wurden vergleichende Untersuchungen zwischen dem einfachen destillativen Verfahren (validierte Standardmethode der LUA Sachsen) und der SPME angestellt. Dazu wurden Spirituosen aus dem Untersuchungsgut der LUA Sachsen parallel vermessen. Auch hier wurde eine hohe Übereinstimmung der ermittelten Gehalte nach beiden Verfahren festgestellt (R = 0,999). Darüber hinaus hat sich die HS-SPME-Methode bei einer Laborvergleichsuntersuchung der „Arbeitsgruppe Spirituosen“ der Lebensmittelchemischen Gesellschaft bewährt und lieferte vergleichbare Ergebnisse<sup>13)</sup>.

Tab. 3 Thujongehalte [mg/l] ausgewählter Absinthe – Vergleich verschiedener Verfahren (FFE, SPE, HS-SPME)

Bezeichnung	FFE/GC/MS <sup>(2)</sup>	SPE/GC/MS <sup>(7,11)</sup>	HS-SPME					
			GC/MS			GC/FID		
			Gesamt-Thujon	$\alpha$ -Thujon	$\beta$ -Thujon	Gesamt-Thujon	$\alpha$ -Thujon	$\beta$ -Thujon
Absinth Lasala, E	9,4	9,4	1,42	8,32	9,7	1,39	8,22	9,6
Absinth Fuchs, D	0,4	0,3	0,17	0,34	0,5	0,18	0,39	0,6
Absenthe, F	8,1	8,9	3,15	3,22	6,4	2,94	3,07	6,0
Absinth Tabu, D	0,1	0,1	0,16	nn	0,2	0,15	0,12	0,3
Absinth Prohibido, E	5,4	4,8	0,35	4,97	5,3	0,30	4,35	4,7
Absinth Furial, D	0,1	0,2	0,13	0,16	0,3	0,13	0,18	0,3
Absentha Tunel, E	0,1	0,2	nn	0,09	0,1	0,02	0,12	0,1
Hills Absinth, CZ	0,1	0,1	0,04	0,01	0,1	0,06	0,04	0,1
Versinth, F	14,1	16,9	9,76	7,11	16,9	9,00	6,65	15,7
Absenta Deva, E	1,3	1,4	nn	0,88	0,9	0,10	0,88	1,0
Absinthe Oxygenee, F	3,0	2,8	1,83	0,63	2,5	1,96	0,76	2,7
Absinth Grüner Engel, D	56,8	52,0	3,46	47,27	50,7	3,25	52,51	55,8
Absinth La Blanche, F	11,5	11,7	6,19	4,85	11,0	6,65	5,52	12,2
Absinthe Mata Hari, A	28,1	31,7	1,89	26,22	28,1	1,94	28,96	30,9
Absinthe Candela, E	14,1	11,6	0,99	14,4	15,4	0,84	13,3	14,2
Absinth Grüne Fee, A	12,8	12,6	0,68	10,69	11,4	0,76	11,70	12,5
Absinthe Guy, F	30,2	28,8	4,51	30,75	35,3	3,73	27,15	30,9
Absinth Fruko-Schulz, CZ	1,6	1,6	0,22	0,66	0,9	0,21	0,59	0,8
Mr. Jeckyll, D	0,1	0,1	0,11	0,03	0,1	0,10	0,02	0,1

#### 4 Schlussbetrachtung

Die SPME-Methodik stellt eine sinnvolle Alternative zu klassischen Aufarbeitsverfahren dar. Ihre Vorzüge – einfach und schnell, billig und lösungsmittelfrei – lassen einen breiten Anwendungsrahmen zu. Mittels der vorgestellten Methode lassen sich die Aromastoffe  $\alpha$ -Thujon,  $\beta$ -Thujon, Pulegon, Safrol, Isosafrol und mit MS-Detektion auch  $\beta$ -Asaron in Spirituosen und weinhaltigen Getränken sicher bestimmen. Die Untersuchungen zeigten, dass präzise und reproduzierbare Ergebnisse erzielt werden können. Anhand authentischer Spirituosen wurden vergleichende Messungen mit herkömmlichen Untersuchungsverfahren (FFE, SPE, Destillative Abtrennung) durchgeführt, welche die Eignung der SPME-Methode dokumentieren. Beide von uns verwendete Messsysteme (GC/FID und GC/MS) können zur Bestimmung der Analyten herangezogen werden. Eine Anwendung der Methode auf andere Stoffsysteme scheint ebenso wie eine weitere Steigerung der Präzision durch Automatisierung nahe liegend und möglich.

#### Literatur

- 1) Kataoka, H., H. L. Lord and J. Pawliszyn: Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *J. Chromatogr. A* **880**, 35–62 (2000).
- 2) Kröner, L. U., S. A. Padosch, M. S. Brückner, D. W. Lachenmeier, F. Mußhoff und B. Madea: Optimierung einer HS-SPME/GC/MS-Methode zur Bestimmung von  $\alpha$ - $\beta$ -Thujon in alkoholischen Getränken. *Lebensmittelchem.* **57**, 78 (2003).
- 3) Kröner, L. U., S. A. Padosch, D. W. Lachenmeier und B. Madea: Untersuchungen zur forensischen Relevanz thujonhaltiger Spirituosen unter

Tab. 4 Lineare Korrelation der Analysenergebnisse verschiedener Methodenkombinationen zur Bestimmung von Thujon in Spirituosen

	R
FFE-MS/SPE-MS	0,994*
FFE-MS/SPME-MS	0,999*
FFE-MS/SPME-FID	0,998*
SPE-MS/SPME-MS	0,989*
SPE-MS/SPME-FID	0,997*
SPME-MS/SPME-FID	0,993*
Destillation-FID/SPME-MS	0,999*

\* P  $\leq$  0.0001

besonderer Berücksichtigung toxikologisch-analytischer Aspekte. *Blutalkohol* **42**, 263–271 (2005).

- 4) Schmidt, R.: Erstellung einer SPME-GC-Methode zur Bestimmung von Aromastoffen in Spirituosen und weinhaltigen Getränken. Belegarbeit Praktisches Semester, Hochschule für Technik und Wirtschaft, Dresden (2004).
- 5) Aromenverordnung: BGBl. I 1625 (1981) zul. geänd. BGBl. I 128 (2005).
- 6) Lachenmeier, D. W., W. Frank, C. Athanasakis, S. A. Padosch, B. Madea, M. A. Rothschild und L. U. Kröner: Absinth – ein Getränk kommt wieder in Mode: toxikologisch-analytische und lebensmittelrechtliche Betrachtungen. *Deut. Lebensm.-Rundsch.* **100**, 117–129 (2004).
- 7) Emmert, J., G. Sartor, F. Sporer and J. Gummersbach: Determination of  $\alpha$ - $\beta$ -thujone and related terpenes in absinthe using solid phase extraction and gas chromatography. *Deut. Lebensm.-Rundsch.* **100**, 352–356 (2004).
- 8) Lachenmeier, D. W., L. Kroener, F. Musshoff and B. Madea: Determination of cannabinoids in hemp food products by use of headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* **378**, 183–189 (2004).
- 9) Lachenmeier, K., F. Mußhoff, B. Madea, E. M. Sohnius, W. Frank und D. W. Lachenmeier: Bestimmung von Anethol in Spirituosen – Vergleich von

- Flüssig-Flüssig-Extraktion mit Festphasenmikroextraktion (HS-SPME). Deut. Lebensm.-Rundsch. **101**, 187–192 (2005).
- 10) DIN 32 645: Chemische Analytik: Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze, Ermittlung unter Wiederholbedingungen. Begriffe, Verfahren, Auswertung. Beuth Verlag, Berlin, Germany (1994).
- 11) *Lachenmeier, D. W., J. Emmert* und *G. Sartor*: Authentifizierung von Absinth – bittere Wahrheit über eine Legende. Deut. Lebensm.-Rundsch. **101**, 100–104 (2005).
- 12) *Lachenmeier, D. W., J. Emmert, T. Kuballa* and *G. Sartor*: Thujone-Cause of absinthism? Forensic Sci. Int., in press. DOI: 10.1016/j.forsciint.2005.04.010 (2005).
- 13) *Bauer-Christoph, C. und C. Fauhl*: Laborvergleichsuntersuchung der Arbeitsgruppe Spirituosen: Bestimmung von Stoffen der Anlage 4 AromenV in einer Kräuterspirituose. Lebensmittelchem. **59**, 46–47 (2005).
-