

**Belančić, Antonela**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2015**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:159:291479>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-09**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija**

**Antonela Belančić**

6208/PT

**APSINT**  
**ZAVRŠNI RAD**

**Modul:** Proizvodnja jakih alkoholnih pića

**Mentor:** izv.prof.dr.sc. Damir Stanzer

**Zagreb, 2015.**

## DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija  
Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo  
Laboratorij za tehnologiju vrenja i kvasca

APSINT

*Antonela Belančić, 6208/PT*

**Sažetak:** Apsint je jako alkoholno piće, koje se proizvodi od pelina, anisa, komorača i drugog ljekovitog bilja, koje mora zadovoljiti određene minimalne zahtjeve. Proizvod može biti od žuto-zelene boje do boje masline ili bezbojan. U kontaktu s vodom mora doći do karakterističnog zamućenja proizvoda odnosno do tzv. „louche-efekta“ te proizvod mora imati karakterističnu mirisnu aromu i gorak okus. Treba imati minimalno 45% alkohola te koncentracija tujona, glavnog sastojka eteričnog ulja biljke pelin, ne smije biti veća od 35 mg/l. Ne smiju se upotrebljavati umjetna bojila u proizvodnji, već se boja treba postići pomoću pelina i ostalog ljekovitog bilja. Apsint se može proizvoditi na dva načina: destilacijom ili hladnim miješanjem. Mnoge zemlje nemaju Pravilnik o njegovoj proizvodnji, a jedina zemlja koja ima Pravilnik je Švicarska koji kaže da je destilacija jedina dopuštena i pravilna metoda proizvodnje. Proizvodi lošije kvalitete najčešće se proizvode hladnim miješanjem gotovih ekstrakata i umjetnih bojila u etilnom alkoholu.

**Ključne riječi:** apsint, pelin, tujon, destilacija

**Rad sadrži:** 28 stranica, 09 slika, 04 tablica, 067 literaturnih navoda, 00 priloga

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u:** Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** izv.prof.dr.sc. Damir Stanzer

**Pomoć pri izradi:** izv.prof.dr.sc. Damir Stanzer

**Rad predan:** rujan 2015.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Final work

University of Zagreb  
Faculty of Food Technology and Biotechnology  
Undergraduate studies Food Technology  
Department of Food Engineering  
Laboratory for Fermentation and Yeast Technology

### ABSINTHE

*Antonela Belančić, 6208/PT*

**Abstract:** Absinthe is a spirit drink, which is manufactured from wormwood, anise, fennel and other herbs, and it has to satisfy minimum requirements. Product can be from yellow-green color to olive green or without color. In contact with water should arise characteristic clouding that is called „louche-effect“ and product has to have characteristic aromatic flavour and bitter taste. It should have an alcoholic strength of at least 45% vol. and thujone content, main component of wormwood essential oil, shouldn't be more than 35 mg/l. Product should not contain artificial dye, the color has to be achieved with wormwood and other herbs. Absinthe can be produced in two ways: by distillation and cold mixing. Most of the countries don't have regulations for his production, and the only country that has it is Switzerland which says that distillation is the only allowed and correct method of production. Inferior products are usually made by cold mixing of flavouring essences and artificial dye in ethyl alcohol.

**Keywords:** absinthe, wormwood, thujone, distillation

**Thesis contains:** 28 pages, 09 figures, 04 tables, 067 references, 00 supplements

**Original in:** Croatian

**Final work in printed and electronic (pdf format) version is deposited in:** Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** Damir Stanzer, PhD, Assistant Professor

**Technical support and assistance:** Damir Stanzer, PhD, Assistant Professor

**Thesis delivered:** September 2015.

## SADRŽAJ

|   |    |
|---|----|
| 1. Uvod.....  | 1  |
| 2. Povijest apsinta .....                                 | 2  |
| 3. Proizvodnja apsinta .....                              | 4  |
| 3.1. Destilacija .....                                    | 4  |
| 3.2. Hladno miješanje .....                               | 6  |
| 4. Skladištenje .....                                     | 8  |
| 5. Podjela apsinta .....                                  | 10 |
| 6. Sastojci .....   | 11 |
| 6.1. Pelin .....  | 11 |
| 6.2. Anis (Pimpinella anisum L.).....                     | 13 |
| 6.3. Komorač (Foeniculum vulgare Mill.).....              | 14 |
| 7. Kemijski sastav .....                                  | 15 |
| 8. Minimalni zahtjevi apsinta.....                        | 16 |
| 9. Farmakologija i toksikologija .....                    | 19 |
| 10. Kontrola kvalitete apsinta.....                       | 20 |
| 11. Mogućnosti smanjenja koncentracije tujona .....       | 22 |
| 12. Analitičke metode određivanja spojeva u apsintu ..... | 24 |
| 12.1. Tujon.....  | 24 |
| 12.2. Absintin .....                                      | 25 |
| 12.3. Alkohol i hlapivi kongeneri .....                   | 26 |
| 12.4. Upotreba umjetnih bojila .....                      | 26 |
| 13. Zaključak .....                                       | 27 |
| 14. Popis literature.....                                 | 28 |

## 1. Uvod

Apsint je jako alkoholno piće koje može sadržavati volumni udio alkohola od 45 do 74%. Proizvodi se od pelina, anisa, komorača i drugog ljekovitog bilja procesom destilacije. Karakteristične je smaragdno zelene boje, gorkog okusa i arome te dodatkom vode dolazi do specifičnog zamućenja poznatog kao „louche-efekt“. Ovo alkoholno piće bilo je vrlo popularno krajem 19. i početkom 20. stoljeća u Europi, pogotovo u Francuskoj, a kasnije se proširilo u Sjedinjene Američke Države. S vremenom je primijećeno da redovita konzumacija apsinta može uzrokovati sindrom koji se naziva „apsintizam“ koji se manifestira halucinacijama, nesanicom, drhtanjem te grčanjem. Smatralo se da je on odgovoran za mnoge bolesti toga doba te je odlučeno da se uvede zabrana konzumacije ovog alkoholnog pića u mnogim zemljama. Glavni razlog „apsintizma“ pripisivao se visokoj koncentraciji tujona, koje su prema nekim podacima dostizale 260 mg/l. S obzirom da analitičke metode toga vremena nisu bile pouzdane i nisu mogle separirati tujon od drugih sličnih spojeva iz eteričnog ulja, dobiveni rezultati nisu bili ispravni i smatra se da su bili uvelike precijenjeni. Vjerojatniji razlog nastanka ovog sindroma kod redovitih konzumenata ovog proizvoda je konzumiranje krivotvorina koje nisu bile proizvedene na prikladan način i u kojima su se koristili sastojci koji su imali štetan utjecaj na zdravlje.

U ovom radu na temu „Apsint“ bit će predstavljena povijest apsinta, njegova proizvodnja, načini proizvodnje i upotrijebljene sirovine te skladištenje samog proizvoda. Nadalje slijedi osvrt na kemijski sastav, kontrolu kvalitete, minimalne zahtjeve kod proizvodnje i određivanje prisutnosti pojedinih karakterističnih spojeva u ovom jakom alkoholnom piću.

## 2. Povijest apsinta

Pravo podrijetlo apsinta nije točno određeno. Medicinska upotreba pelina spominje se već u drevnom Egiptu 1550. godine prije Krista. Grci su koristili ekstrakte pelina i njegovo lišće natopljeno u vinu kao lijek, što upućuje na postojanje vina s aromom pelina u drevnoj Grčkoj.

Apsint je nastao u Švicarskoj u francuskom kantonu krajem 18. Stoljeća (Lachenmeier i sur., 2005). Malo se koje piće u povijesti okružilo s toliko legendi i tajnovitih priča kao apsint. Legenda kaže da je izumitelj ovog jakog alkoholnog pića dr. Pierre Ordinaire iz Couveta, koji je 1792. godine proizveo lijek koji je imao mnoge primjene u liječenju raznih bolesti poput epilepsije, gihta, bubrežnog kamenca, kolika, glavobolja, malarije, dizenterije i drugih. Od tuda potječe naziv „green fairy“ tj. „zeleni čarobnica“. Ordinaire je upotrijebio pelin zajedno s anisom, komoračom i drugim različitim ljekovitim biljkama koje je destilirao u alkoholu.

Izum apsinta može se pripisati i sestrama Henriod jer nikada nije dokazano jesu li recept preuzele od doktora Ordinairea ili su ga same proizvele. Taj izum zaintrigirao je Major Dubieda, koji je u tome vidio ne samo mogućnost proizvodnje lijeka, već i aperitiva. Dubied je preuzeo formulu od sestara Henriod te je sa Henry - Louis Pernodom otvorio tvornicu pod nazivom Pernod Fils za proizvodnju, prvo u Couvetu, a zatim u Francuskoj u Pontarlieru 1805. godine. Pernod Fils je tada bio najpopularniji proizvođač apsinta do zabrane 1915. godine u Francuskoj.

Za vrijeme rata u Alžiru francuska vojska je koristila alkoholna pića koja sadrže pelin kako bi se prevenirale bolesti poput malarije i crijevnih glista, te za podizanje borbenog duha i morala. Povratkom vojnika u Francusku povećala se popularnost apsinta. Osim toga, njegovoj popularnosti pridonio je i porast cijena vina zbog velikih gubitaka nastalih u vinogradarstvu, a uz to došlo je i do značajnih smanjenja u cijenama apsinta (Lachenmeier i sur., 2006). Zbog pada cijene postao je mnogo pristupačniji svim slojevima građana. U barovima, kabareima i cafe-barovima u Parizu, „l'heure verte“ odnosno „zeleni sat“ je postao svakodnevna rutina, a posebnu popularnost stekao je kod umjetnika i intelektualaca te pripadnika visokog društva. Najpoznatiji od njih bili su Vincent van Gogh, Oscar Wilde, Edgar Allan Poe, Pablo Picasso, Ernest Hemingway, Edouard Manet i mnogi drugi, te je vidljivo da je korištenje ovog jakog alkoholnog pića imalo znatan utjecaj na njihovo opsežno stvaralaštvo.

Povijesno gledajući 1850. godine primijećeno je da redovita konzumacija apsinta uzrokuje sindrom „apsintizam“. Zbog njegove masovne konzumacije apsint se smatrao uzrokom mnogih bolesti te je zatražena njegova zabrana konzumiranja i 1905. godine uvedena je prohibicija u Belgiji, te zatim u Švicarskoj, Nizozemskoj, Italiji i Sjedinjenim Američkim Državama. U Francuskoj apsint je zabranjen 1915. godine zbog zloupotrebe od strane francuske vojske u prvom svjetskom ratu, a u Njemačkoj tek 1923. godine. (Lachenmeier i sur., 2005). Zapanjujuća je činjenica da je u Francuskoj 1910. godine popijeno 36 milijuna litara apsinta. Države koje nisu zabranile proizvodnju i upotrebu ovog pića su Španjolska, Portugal i Češka, te su u Francuskoj proizvođači izumili zamjenske proizvode koji nisu sadržavali pelin.



Slika 1. Slika Vincenta van Gogha inspirirana apsintom (Lachenmeier i sur., 2006)



### 3. Proizvodnja apsinta

Mnoge zemlje nemaju Pravilnik o proizvodnji ovog jakog alkoholnog pića za razliku od primjerice whiskeya, brandya i gina čiji je način proizvodnje definiran i točno određen zakonskom regulativom. Način proizvodnje apsinta je poslovna tajna.

Razlikujemo dva načina proizvodnje: destilacija i hladno miješanje. Jedina zemlja koja sadrži Pravilnik o proizvodnji apsinta je Švicarska koji kaže da je destilacija jedina dopuštena metoda proizvodnje.

#### 3.1. Destilacija

Slijedeći tradicionalne recepte proizvodnje, u prvom koraku se nakon usitnjavanja provodi maceracija pelina, anisa, komorača i drugog sušenog ljekovitog bilja (Lachenmeier i sur., 2006). To znači da se bilje ostavlja određeno vrijeme u destiliranoj alkoholnoj bazi bez zagrijavanja kako bi se izolirali aktivni sastojci. Vrijeme maceracije direktno utječe na aromu. Tako nastaje macerat koji je zeleno-smeđe boje te aromatičnog mirisa. Okus je blago peckajući, jako gorak i podsjeća na kamfor (Lachenmeier i sur., 2006). Nakon filtracije macerata, koja služi za uklanjanje ljekovitog bilja, dodaje se određena količina vode i provodi se destilacija te se tako dobiva destilat koji sadrži smanjen udio gorkih spojeva, koji su relativno nehlapivi te je bez boje. Taj destilat se može koristiti za proizvodnju bijelog apsinta odnosno „La Bleue absinthe“ koji se može obojiti prirodnim ili umjetnim bojilima kako bi se dobio apsint zelene boje. Destilacija se nikad ne bi trebala provoditi do kraja jer bi okus samog proizvoda bio presnažan i manje kvalitetan (Lachenmeier, 2007). Za proizvodnju proizvoda visoke kvalitete uzimaju se glavne frakcije destilacije, dok se ostale odbacuju.

Nakon destilacije slijedi ponovno dodavanje pelina (najčešće *Artemisia pontica L.*), anisa, komorača i drugog ljekovitog bilja u bezbojni destilat. Druga maceracija provodi se kako bi se postigla željena karakteristična zelena boja pomoću pigmenta klorofila i blagi gorak okus te ekstrakcija drugih aromatičnih spojeva. Zbog lake denaturacije klorofila pomoću svjetlosti i topline dobiva se karakteristična zelena boja. Nakon postizanja odgovarajuće boje i arome uklanja se bilje te se završni proizvod razrijedi do željenog postotka alkohola. Dobiveni proizvod najčešće se puni u boce pri 45-74% alkohola. Smatra se da se aroma apsinta poboljšava skladištenjem i čuvanjem.

Na kvalitetu eteričnog ulja upotrijebljenog bilja znatan utjecaj ima proces sušenja. Istraživanja su pokazala da čak i sušenje blago zagrijanim zrakom (25-39 °C) može dovesti do nepoželjnih promjena organoleptičkih svojstava ulja pelina. Proces sušenja ljekovitog bilja se treba provoditi sa ili bez prisutstva zraka pri sobnoj temperaturi kako bi se postigla zadovoljavajuća kvaliteta. Proces sušenja i skladištenje nema utjecaja na gorak spoj absintin (Tateo i Riva, 1991).

U nekim slučajevima macerirano bilje se ne destilira već samo filtrira te razrjeđuje do potrebnog postotka alkohola te se puni u boce. Takvi proizvodi imaju snažan okus pelina i gorčinu.

Najkvalitetniji proizvodi danas se proizvode po tradicionalnim recepturama bez dodavanja umjetnih bojila i aditiva (Lachenmeier, 2007). Tipovi apsinta s nižim udjelom alkohola i dodatkom šećera prodaju se kao apsint likeri.

Za poboljšanje okusa ili za dodatno obojenje koriste se anis, zvjezdani anis, melisa, blagovanj, smreka, korijandar, muškatni oraščić i drugo bilje. Svaka država se razlikuje po načinu proizvodnje. Npr. u Češkoj se dodaje pepermint, a ne anis i komorač. U Švicarskoj se dodaje melisa, blagovanj te korijen angelike, dok u Francuskoj korijandar.

## 3.2. Hladno miješanje

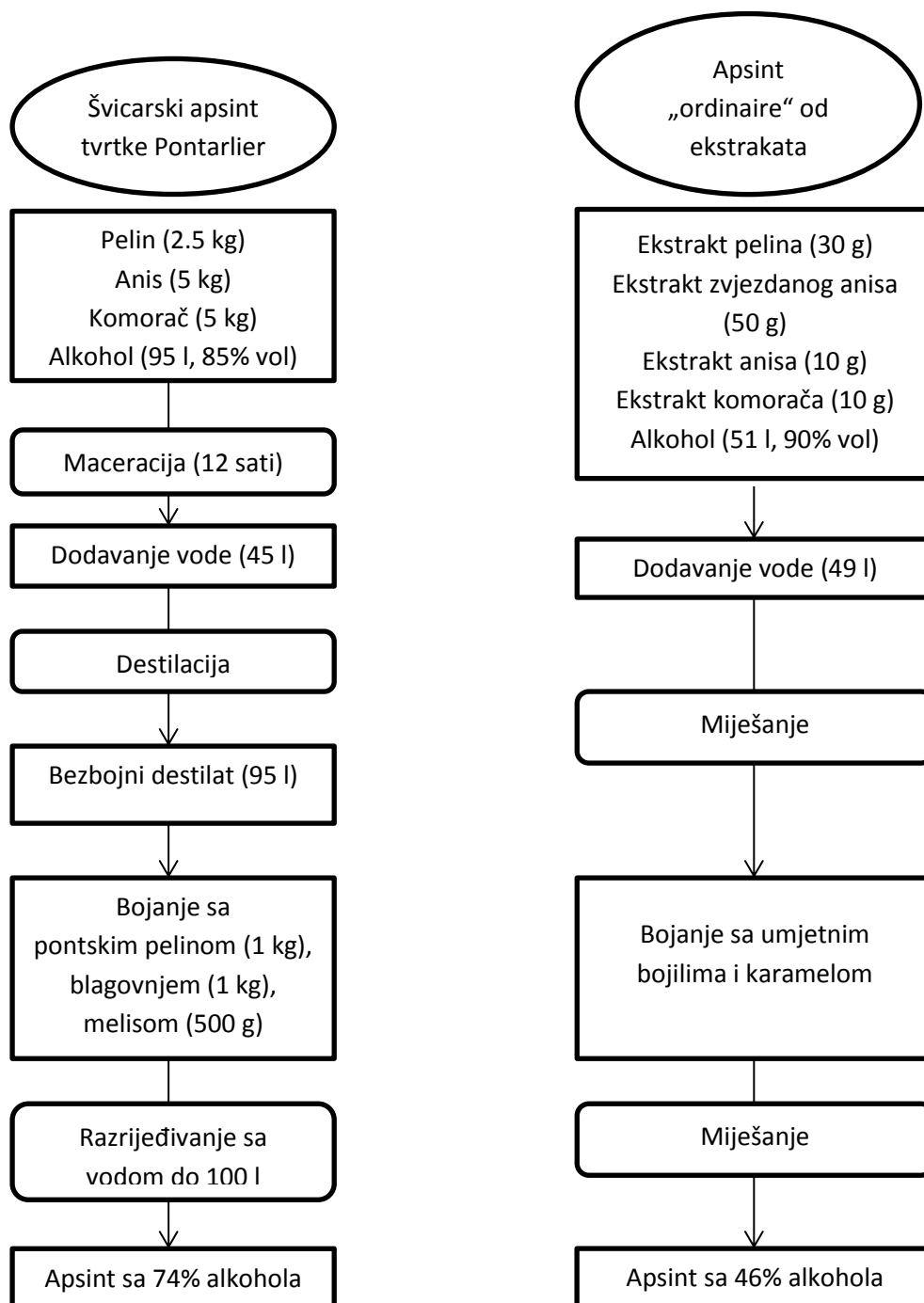
U današnje vrijeme mnogi proizvođači proizvode apsint na ovaj način jer je jeftiniji i ne zahtjeva destilaciju.

Ovaj postupak uključuje jednostavno miješanje aromatičnih esencija (gotovih ekstrakata pelina i drugog bilja) i umjetnih bojila u etilnom alkoholu. Umjetna bojila koja se najčešće koriste su mješavine žutog tartrazina (E102) i patent blue V (E131) ili brilliant blue FCF (E133) (Lachenmeier, 2007).

Tako proizveden apsint može sadržavati i do 90% alkohola. S obzirom da u većini zemalja ne postoji Pravilnik o proizvodnji to omogućuje tvornicama koje proizvode apsint na ovaj način da krivotvore način proizvodnje. Oni tako na svojim proizvodima stavljaju oznaku „destilirano“ s obzirom da je alkoholna baza destilirana u određenom procesu proizvodnje. To im omogućava prodavanje takvog apsinta po cijeni autentičnog dobivenog destilacijom direktno iz bilja. Jedino u Švicarskoj, gdje postoji Pravilnik o proizvodnji, je zabranjena prodaja takvog apsinta.

Kod nekih proizvoda, kako bi se falsificirali, koriste se ekstrakti drugih biljaka koje sadrže tujon poput tuje (*Thuja occidentalis L.*) ili kadulje (*Salvia officinalis L.*).

Zanimljivo je kako su u 19. stoljeću također falsificirali apsint hladnim miješanjem, te su kako bi pojačali zelenu boju klorofila dodavali bakrov sulfat koji je toksičan, bakrov acetat, indigo, anilin green, kurkumu te ekstrakte špinata (Lachenmeier i sur., 2006). U nekim slučajevima dodavali su i antimon klorid kako bi izazvali zamućenje koje proizlazi u procesu razrjeđenja vodom.



Slika 2. Postupci proizvodnje apsinta destilacijom i hladnim miješanjem (Lachenmeier i sur., 2006)

|                                     | <b>Švicarski apsint<br/>tvrške Pontalier</b>                        | <b>Bijeli švicarski<br/>apsint</b>                                  | <b>Apsint tvrške<br/>Neufchatel</b>                           |
|-------------------------------------|---|---|---|
| <b>Priprema</b>                     | 2.5 kg pelina i drugog bilja i 95 l alkohola (85% vol)              | 4 kg pelina i drugog bilja i 95 l alkohola (85% vol)                | 6 kg pelina i drugog bilja i 15 l alkohola (85% vol)          |
| <b>Maceracija (sati)</b>            | 12  | 12  | 24  |
| <b>Destilacija</b>                  | Dodavanje 45 l vode i spora destilacija do dobivanja 95 l proizvoda | Dodavanje 45 l vode i spora destilacija do dobivanja 95 l proizvoda | Dodavanje 15 l vode i destilacija do dobivanja 15 l proizvoda |
| <b>Obojenje</b>                     | Bojanje destilata sa 1 kg pelina i drugog bilja pri 50°C            | Nema obojenja   | Umjetna bojila  |
| <b>Prilagodba postotka alkohola</b> | Prilagodba na 74% alkohola (otprilike 100 l)                        | Dodavanje vode do dobivanja 100 l                                   | Dodavanje 65 l alkohola (85% vol) i 20 l vode                 |

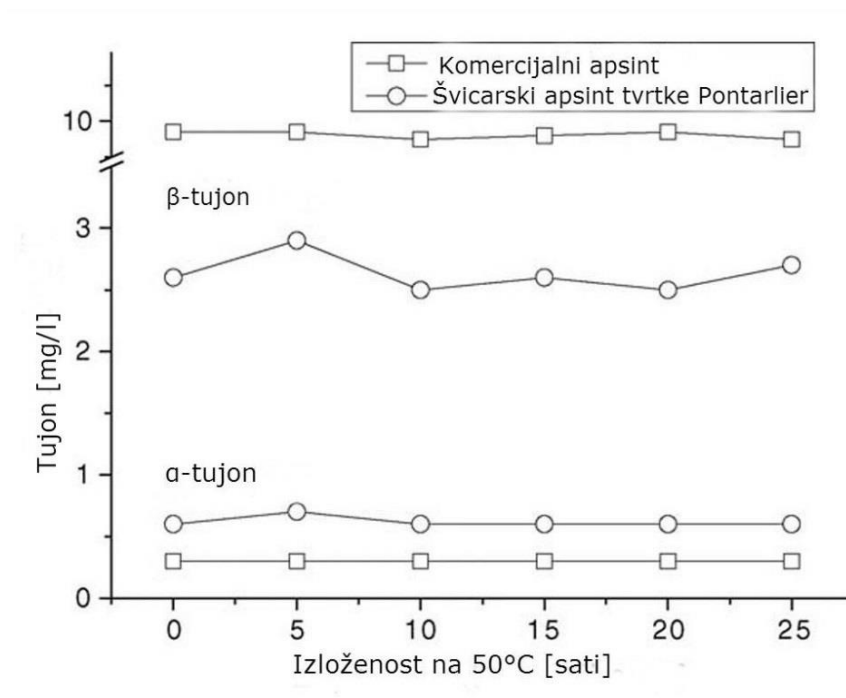
Tablica 1. Recepti proizvodnje određenih tipova apsinta (Lachenmeier i sur., 2006)

#### 4. Skladištenje

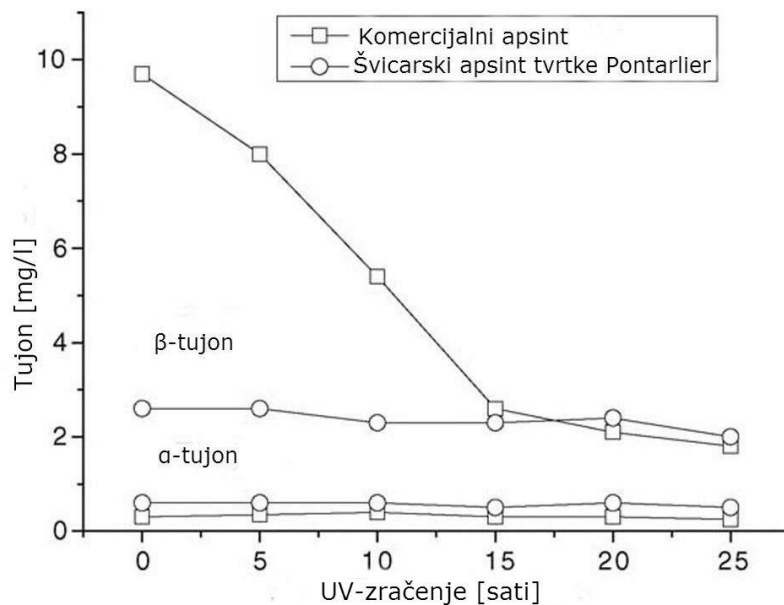
Apsint kod kojeg su korištena umjetna bojila te bezbojni apsint su estetski stabilni te se mogu puniti u boce prozirnog stakla. Ako je apsint, koji je dobiven maceracijom i prirodno obojen skladišten godinu dana pri sobnoj temperaturi neće do značajnih promjena ni u boji ni u koncentraciji tujona (Lachenmeier i sur., 2005). Osim toga, takvo skladištenje ima pozitivan utjecaj na aromu. Međutim, ako je proizvod kroz duži period izložen svjetlosti i zraku može doći do postepene oksidacije klorofila. Zbog toga dolazi do promjene boje iz zelene u žuto-zelenu, te s vremenom čak i u smeđu. Ta promjena boje često se naziva „feuille morte“ odnosno „boja mrtvog lista“. U prošlosti, prije zabrane ovog jakog alkoholnog pića, ta promjena boje se smatrala pozitivnom jer je to bila potvrda da nisu bila korištena umjetna bojila s mogućim otrovnim kemikalijama te da je apsint proizveden destilacijom. Ta promjena boje nema štetni utjecaj na aromu proizvoda, samo je poželjno sačuvati izvornu zelenu boju što zahtjeva da se apsint čuva u tamnim bocama, otpornim na svjetlost.

Dokazano je da visoka temperatura nema utjecaj na koncentraciju tujona u apsintu (Slika 3.). Međutim, prilikom skladištenja potrebno je zaštititi proizvod od mogućeg UV-zračenja koje dovodi do značajnog smanjenja koncentracije  $\beta$ -tujona (Slika 4.). To se može postići punjenjem u tamno-zelene boce te skladištenjem u tamnim prostorijama (Lachenmeier i sur., 2005).

Apsint koji se čuva desetljećima mora se skladištiti na hladnom i suhom mjestu što dalje od svjetlosti i topline. Ne bi se smio skladištiti u frižideru ili zamrzivaču jer može doći do polimerizacije anetola u boci zbog čega nastaje ireverzibilni talog koji utječe na izvornu aromu.



Slika 3. Utjecaj povišene temperature na koncentraciju tujona u apsintu (Lachenmeier i sur., 2005)



Slika 4. Utjecaj UV-zračenja na koncentraciju tujona u apsintu (Lachenmeier i sur, 2005)

## 5. Podjela apsinta

Za razliku od drugih jakih alkoholnih pića, apsint nema točno određene propise koji reguliraju njegovu klasifikaciju i označavanje.

U slučajevima prvoklasnog apsinta podjela se temelji na udjelu alkohola u proizvodu. Tako razlikujemo „ordinaire“ sa 45-50 % alkohola, „demi-fine“ sa 50-68% alkohola, „fine“ sa 68-72 % alkohola te „suisse“ koji također sadrži od 68-72 % alkohola. Međutim „suisse“ se sastoji od čistog biljnog destilata te je najbolje kvalitete. Kod ostalih vrsta apsinta destilat je razrijeđen sa etilnim alkoholom (Lachenmeier i sur., 2006).

Također se može podijeliti i na destilirani i miješani ovisno o načinu proizvodnje. Međutim, na nekim proizvodima može stajati oznaka „destiliran“ iako nije dobiven tim načinom proizvodnje, već hladnim miješanjem.

## 6. Sastojci

Apsint se prema tradicionalnoj recepturi proizvodi destilacijom neutralnog alkohola, različitog ljekovitog bilja, začina te vode.

Tri glavne biljke koje se koriste u proizvodnji su gorski pelin, anis te komorač. Također se mogu dodati i pontski pelin, blagovanj, melisa, zvjezdani anis, angelika, pepermint, korijandar, veronika i mnoge druge biljke.

### 6.1. Pelin (*Artemisia absinthium L.*)

Pelin je jedan od glavnih tvari arome za proizvodnju apsinta te je po njemu ovo jako alkoholno piće dobilo ime. To je biljka trajnica iz porodice glavočika (*Asteraceae*) koja može narasti u visinu od 50 do 100 cm. To je grmolika biljka sa sivkastim listovima prekrivenim gustim dlačicama. Ima male i okruglaste svijetlo žute cvjetove koji su raspoređeni na vrhu bogato razgranate stabljike. Raširena je u središnjoj Europi te Aziji, a raste na kamenitim i sunčanim staništima, pustom i neobrađenom tlu, a posebice na vapnenačkom tlu.

Ova biljka ima jak i karakterističan miris. Nadzemni dijelovi biljke se beru te suše kako bi se mogli koristiti u proizvodnji alkoholnih pića.

Pelin je bogat eteričnim uljem kojeg sadrži od 0.2 do 1.5 % čija se boja kreće od tamno zelene ili smeđe do plave (Lachenmeier, 2007). Ulje je peckajuće gorkog okusa i vrlo snažnog mirisa. Glavni sastojak eteričnog ulja pelina je biciklički monoterpen tujon kojeg sadrži između 40 i 90%. Razlikuju se dva izomera  $\alpha$ -tujon i  $\beta$ -tujon. Najčešće je koncentracija  $\beta$ -tujona veća od koncentracije  $\alpha$ -tujona odnosno koncentracija  $\beta$ -tujona iznosi 70-90% od ukupne koncentracije.

Postoji više kemotipova ove biljke, ovisno o tome koji spoj prevladava u eteričnom ulju. Tako razlikujemo „čisti“ kemotip u kojem prevladava jedan spoj te „mješoviti“ kemotip u kojem su prisutna dva ili više spojeva u većim količinama (Chialva i sur., 1983). Kemotip biljke ovisi o mjestu rasta i klimi te daje eterična ulja različitog kemijskog sastava i djelovanja.

Osim  $\alpha$ -tujon i  $\beta$ -tujon kemotipova postoje još i kemotipovi koji sadrže cis-krisantenil acetat, cis-krisantenol, cis-epoksicimen, sabinil acetat i mnogi drugi (Chialva i sur., 1983).



Naprimjer, u zapadnim Alpama iznad 1000 m prevladava cis-epoksicimen, dok  $\beta$ -tujon kemotip prevladava na nižim nadmorskim visinama. Zanimljivo je također da eterično ulje pelina koji raste na Pirenejima i u Toskani ne sadrži niti  $\alpha$ -tujon niti  $\beta$ -tujon.

Drugi karakteristični spojevi pelina su gorki terpeni poput absintina (0.20-0.28%), koji je dominantni gorki spoj, i artabsina (0.04-0.16%).

Svojstva eteričnih ulja se razlikuju ovisno o periodu u godini. Najveće koncentracije gorkih spojeva su u rujnu, dok je najviša koncentracija eteričnih ulja između lipnja i srpnja (Lachenmeier i sur., 2006).



Slika 5. Pelin - *Artemisia absinthium* L. (Köhler, F.E. (1887) Köhler's Medizinal-Pflanzen, Gera-Untermhaus)

## 6.2. Anis (*Pimpinella anisum* L.)

Anis je biljka poznata po svojim aromatičnim začinskim i ljekovitim svojstvima iz porodice štitarki (*Apiaceae*). To je zeljasta jednogodišnja biljka koja može narasti i iznad 90 cm. Najbolje uspijeva na osvjetljenom, plodnom te osušenom tlu, a najviše je raširena na Mediteranskom području te jugo-zapadnoj Aziji. Upotrebljava se u kulinarstvu, medicini te u proizvodnji alkoholnih pića.

Anis svoj specifičan miris duguje eteričnom ulju anetola. Eterično ulje koje se dobije destilacijom iznosi oko 1.5-5% od čega anetol čini 77-94% (Aćimović i sur., 2015). Anetol je organski spoj koji je derivat fenilpropena te se koristi za aromu. Taj aromatični, nezasićeni eter je slabo topiv u vodi, dok je vrlo dobro topiv u etanolu. To je bezbojna, mirisna, blago hlapiva tekućina. U većim količinama je blago toksičan i može djelovati nadražujuće.



Slika 6. Anis - *Pimpinella anisum* L. (Köhler, F.E. (1887) Köhler's Medizinal-Pflanzen, Gera-Untermhaus)

### 6.3. Komorač (*Foeniculum vulgare* Mill.)

Komorač je aromatična začinska biljka iz porodice štitarki (*Apiaceae*). To je višegodišnja zeljasta biljka s moćnim i razgranatim korijenom. Biljka može narasti od 60 do 120 cm u visinu te je posebno rasprostranjena u južnoj Europi. Potječe iz Sredozemlja te joj najviše odgovara topla klima. U plodovima se nalaze sjemenke koje su bogate eteričnim uljima te se zato koristi u kulinarstvu, proizvodnji jakih alkoholnih pića te u medicinske svrhe (Grover i sur., 2013). Eterično ulje je također bogato anetolom, kao i kod anisa, međutim njegova aroma nije toliko snažna.



Slika 7. Komorač - *Foeniculum vulgare* Mill. (Köhler, F.E. (1887) Köhler's Medizinal-Pflanzen, Gera-Untermhaus)

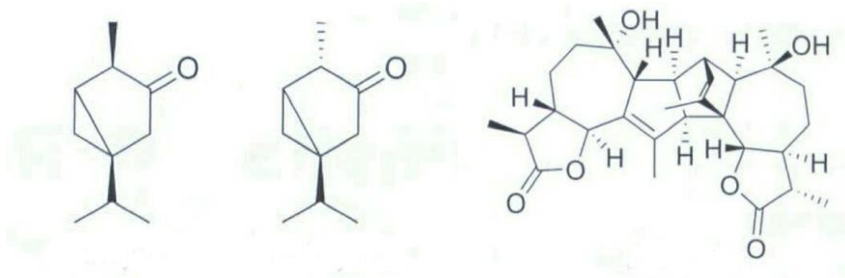
## 7. Kemijski sastav

Kemijski sastav apsinta je određen kemijskim sastavom eteričnog ulja kojeg može biti i do 1.7%. Eterično ulje sarži felendren, pinen, tujon kojeg ima od 3 do 12%, tujil alkohol i njegove estere (acetati, izovalerati i palmitani), bizabolen, kamfen, kardinien, nerol te nekoliko azulena. Biljka pelin također sadrži gorke glukozide absintin, absintinsku kiselinu, anabsintin, artabsin, artametrin, jantarnu kiselinu zajedno s taninima, smolom, škrobom, malatima i nekim solima (Patočka i Plucar, 2003).

Tujon je najvažniji biološki aktivni spoj u apsintu. Prvi put je ekstrahiran iz biljke tuje (*Thuja occidentalis L*) prema kojoj je ovaj spoj dobio ime. Također se naziva i absintol, tanaceton i salviol jer je tujon bio ekstrahiran iz mnogih drugih biljaka prije nego što mu je identificirana struktura. Izvori ovog spoja su biljke pelin (*Artemisia Absinthium L.*) i pontski pelin (*Artemisia Pontica L.*).

Tujon je bicklički monoterpen i keton izveden iz eteričnog ulja pelina (Lachenmeier, 2007). To je kiralni spoj te se pojavljuje u dva stereoizomerna oblika  $\alpha$ -tujon i  $\beta$ -tujon. Izveden je od dviju povezanih izoprenoidnih jedinica koje su izgrađene od izopentilpirofosfata, prekursora biosinteze kolesterola. Ti spojevi su obično mirisna ulja ili krutine niskog tališta te se komercijalno upotrebljavaju za aromu ili sredstva za poboljšavanje okusa (Patočka i Plucar, 2003).

Tujon je strukturno povezan sa mentolom, koji je stari prirodni lijek za mnoge bolesti (Patočka i Plucar, 2003). Mentol u strukturi sadrži cikloheksan ili šesteročlani prsten kao i egzocikličku izopropilnu skupinu. Tujon također sadrži i heksociklički prsten i egzocikličku izopropilnu skupinu, a glavna razlika je u prisutnosti dodatnog tročlanog prstena. Ovaj dodatni prsten proizlazi iz dodatne ugljik-ugljik veze između dva člana cikloheksana. Zbog toga tujon ima miris mentola.



Slika 8.  $\alpha$ -tujon,  $\beta$ -tujon i absintin (Lachenmeier i sur., 2006)

Također prisutni u biljci kao i u apsintu su snažni gorki spojevi poznati kao absintin i anabsintin koji stimuliraju probavni sustav, uključujući i rad žučnog mjehura (Patočka i Plucar, 2003).

## 8. Minimalni zahtjevi apsinta

Najveći proizvođači apsinta su Češka, Španjolska, Francuska i Njemačka te količina alkohola u apsintu varira od 30 do 90% (Lachenmeier i sur., 2006). Klasične definicije tvrde da apsint koji sadrži aromatične spojeve biljke pelin (*Artemisia absinthium L.*) i dalje su važeće u slučaju današnjih proizvoda i mogu biti korištene za njihovu procjenu. Ispitivanjem kvalitete proizvoda tijekom provođenja kontrole proizvodnje receptura mora biti kontrolirana na licu mjesta ako u proizvodu nisu prisutni spojevi tujon i absintin te ako su senzorska ispitivanja pelina negativna. Zahtjeva se da svaki proizvod ima određen sadržaj pelina i „louche“ efekt odnosno da dolazi do karakterističnog zamućenja pri razrjeđenju s vodom. Boja većine proizvoda varira između žuto-zelene i boje masline, ili su bezbojni. Postoje i egzotični proizvodi koje karakterizira neuobičajena crvena boja.

Proizvodi iz Češke razlikuju se od uobičajenih proizvoda iz drugih zemalja (Švicarska, Francuska i Njemačka). U proizvodu nije prisutan karakteristični gorki okus pelina, umjesto toga se primjećuje blagi okus mente (Lachenmeier i sur., 2006). Ono što je vrlo neuobičajeno je boja samog proizvoda koja je tirkizna i to upućuje na upotrebu umjetnih bojila. Vrlo je bitna razlika da se ne javlja mliječno zamućenje nakon dodatka vode. Opisani sastav je karakterističan za apsint iz Češke te je u skladu s lokalnim konceptom trgovine.

Pregledom tržišta ovog proizvoda potrebno je zadovoljiti minimalne zahtjeve. U njih spada karakteristična mirisna aroma i gorak okus uzrokovan prirodnim ekstraktima i destilatima pelina. Proizvod mora biti ili bezbojan ili zelenkaste boje te mora doći do karakterističnog zamućenja u kontaktu sa vodom („louche-effect“). Dok kod kemotipova treba prevladavati  $\beta$ -tujon kemotip nad  $\alpha$ -tujon kemotipom. Daljni zahtjevi za proizvode visoke kvalitete uključuju proizvodnju apsinta destilacijom, proizvod treba imati minimalno 45% alkohola te se ne smiju upotrebljavati umjetna bojila, odnosno boja se treba postići samo pomoću pelina i ostalog ljekovitog bilja (Lachenmeier, 2007).

U pozadini velikog broja proizvoda lošije kvalitete pronađenog na tržištu, Švicarska je inicirala posebno označavanje autentičnih proizvoda što uvelike olakšava odluku potrošača u odabiru proizvoda za kupnju.

| Broj uzorka | Podrijetlo | Senzorska analiza |                |                    | Analitička analiza |                        |                       |
|-------------|------------|-------------------|----------------|--------------------|--------------------|------------------------|-----------------------|
|             |            | Okus pelina       | „Louche-efekt“ | Vrijednost gorčine | Absintin (g/l)     | $\alpha$ -tujon (mg/l) | $\beta$ -tujon (mg/l) |
| 1           | Austrija   | +                 | +              | 14                 | Nije detektiran    | Nije detektiran        | 39.3                  |
| 2           | Austrija   | +                 | +              | 28                 | Nije detektiran    | Nije detektiran        | 13.5                  |
| 3           | Češka      | -                 | -              | 38                 | Nije detektiran    | Nije detektiran        | Nije detektiran       |
| 4           | Češka      | +                 | -              | 313                | 3.4                | 10.8                   | Nije detektiran       |
| 5           | Češka      | +                 | -              | 100                | 1.3                | 29.9                   | 6.8                   |
| 6           | Francuska  | +                 | ++             | 14                 | 0.5                | 6.3                    | 7.1                   |
| 7           | Francuska  | +                 | -              | 33                 | Nije detektiran    | 2.5                    | 0.9                   |
| 8           | Francuska  | -                 | +              | 23                 | Nije detektiran    | 6.3                    | 4.8                   |
| 9           | Francuska  | +                 | +              | 6                  | 1.9                | 0.6                    | 0.5                   |
| 10          | Njemačka   | +                 | ++             | 28                 | 1.5                | Nije detektiran        | Nije detektiran       |
| 11          | Njemačka   | -                 | +              | Nije detektirana   | Nije detektiran    | 5.9                    | 4.4                   |
| 12          | Njemačka   | ++                | +              | 140                | 3.5                | 2.8                    | 67.3                  |
| 13          | Njemačka   | -                 | +              | 28                 | 1.8                | 0.1                    | 0.1                   |
| 14          | Njemačka   | ++                | -              | 274                | 6.4                | Nije detektiran        | 0.7                   |
| 15          | Njemačka   | +                 | -              | 139                | 7.8                | Nije detektiran        | Nije detektiran       |
| 16          | Njemačka   | -                 | +              | Nije detektirana   | Nije detektiran    | 7.4                    | 3.8                   |
| 17          | Njemačka   | -                 | ++             | Nije detektirana   | Nije detektiran    | Nije detektiran        | Nije detektiran       |
| 18          | Njemačka   | -                 | +              | 11                 | Nije detektiran    | 1.2                    | 0.2                   |
| 19          | Njemačka   | -                 | ++             | 11                 | 0.5                | 0.1                    | 4.8                   |
| 20          | Njemačka   | -                 | +              | 60                 | 0.3                | 2.8                    | 3.0                   |
| 21          | Njemačka   | +                 | +              | 55                 | 1.4                | 1.7                    | 26.0                  |
| 22          | Španjolska | -                 | +              | 12                 | Nije detektiran    | 0.1                    | 1.5                   |
| 23          | Španjolska | +                 | +              | 40                 | 0.1                | 1.0                    | 21.0                  |

Tablica 2. Rezultati senzorskih i analitičkih uzoraka apsinta na tržištu iz različitih zemalja (Lachenmeier, 2007)

## 9. Farmakologija i toksikologija

Smatra se da je psihološki učinak apsinta drugačiji od drugih jakih alkoholnih pića. Vjerovalo se da ovo jako alkoholno piće povećava aktivnost mozga, pomaže u razvijanju novih ideja, proširenju mašte te djeluje kao afrodizijak zbog čega je bilo vrlo popularno u prošlosti. Međutim, konzumenti ovog proizvoda počeli su osjećati određene posljedice prouzročene redovitim konzumiranjem. Dok je alkohol doprinio umirujućem efektu, tujon je uzrokovao vizualno i auditivno uzbuđenje. Ta činjenica dokazuje da pelin i tujon imaju određena psihoaktivna svojstva.

U usporedbi s  $\beta$ -tujonom,  $\alpha$ -tujon se smatra 2.3 puta više toksičan (Patočka i Plucar, 2003). Međutim, još je uvijek premalo znanstvenih dokaza o djelovanju tujona, pogotovo u pogledu na utjecaj na središnji živčani sustav. Istraživanje koje su proveli Dettling i suradnici (2004) je pokazalo da konzumiranjem alkohola koji sadrži visoku koncentraciju tujona (100 mg/l) utječe negativno na moć opažanja. Dok se konzumiranjem alkohola koji sadrži nisku koncentraciju tujona (10 mg/l) to nije dogodilo.

Taj učinak se može objasniti time da toksin  $\alpha$ -tujon blokira receptore mozga za gama-aminomaslačnu kiselinu (GABA). Bez pristupa gama-aminomaslačnoj kiselini, prirodnog inhibitora živčanih impulsa, neuroni se pokreću prebrzo te se signalizacija otima kontroli (Patočka i Plucar, 2003).

Zanimljivo je da  $\alpha$ -tujon aktivira receptore za gorki okus. Ti receptori su toliko osjetljivi da pružaju zaštitu od konzumiranja toksične koncentracije ovog spoja.

Također, se smatra da je efekt djelovanja  $\alpha$ -tujona posljedica njegovog vezivanja na receptore kanabinoida, na koje djeluju aktivne komponente marihuane (*Cannabis sativa L.*). Tujon i tetrahidrokanabinol imaju sličan oblik te se neurotoksičnost tujona smatra posljedicom njegove sličnosti u strukturi sa THC-om. Zbog toga se pretpostavljalo da tujon stupa u interakciju s istim biološkim receptorom zbog čega dolazi do sličnih psiholoških učinaka (Patočka i Plucar, 2003). Njihova struktura se u većem dijelu preklapa međutim hipoteza da  $\alpha$ -tujon aktivira CB1 kanabinoidni receptor, bazirana na sličnosti u strukturi, nije eksperimentalno podržana (Lachenmeier i sur., 2006). Određena istraživanja su predstavila dokaz da se niti tujon ni pelin ne vežu na kanabinoidni receptor kod psihološki bitne koncentracije. Očito je da tujon djeluje na neki drugi, još neidentificirani mehanizam.



Istraživanjem različitih vrsta biljke pelin i njihovog psihoaktivnog učinka dokazano je da pušenje lišća te biljke ima psihoaktivni efekt. Mnoge različite vrste biljke *Artemisia genus* su se pušile i koristile kao opojna sredstva u mnogim kulturama. U zapadnom Bengalpu pušili su biljku *Artemisia nilagirica* zbog njezinih psihoaktivnih učinaka, dok se biljka *Artemisia caruthii* udisala jer je djelovala kao analgetik. Međutim, to ne govori mnogo o aktivnim spojevima pelina i igraju li oni ulogu u efektima apsinta. Jedan od primjera je *Artemisia nilagirica* čije eterično ulje sadrži manje od 1% ukupnih tujona (Patočka i Plucar, 2003).

Postoje i indikacije da je tujon sam po sebi psihoaktivan.  $\alpha$ -tujon kada se ubrizgava podkožno štakorima djeluje protiv boli, što se može usporediti sa kodeinom.

Također neki drugi spojevi apsinta mogu biti bioški aktivni. Naprimjer, absintin je na popisu narkotičkih analgetika u istoj skupini sa kodeinom i deksmetorfanom (Patočka i Plucar, 2003).

Kombinacijom određenog ljekovitog bilja apsint može djelovati kao afrodisijak na oba spola te poput narkotika (Patočka i Plucar, 2003). Najboljom kombinacijom za postizanje tih učinaka smatra se upotreba eteričnih ulja pelina, anisa, omana (*Inula helenium L.*), mažurana (*Origanum majorana L.*) i drugog bilja u proizvodnji.

Negativni efekti današnjih proizvoda ovog jakog alkoholnog pića su uglavnom uzrokovani visokim postotkom alkohola (>50%) (Lachenmeier i sur., 2006). Iako je moguće postići visoku koncentraciju tujona u krvi ukoliko se konzumira nezakonito proizveden i distribuiran proizvod.

## 10. Kontrola kvalitete apsinta

Apsint nije definiran niti u njemačkim Pravilnicima za alkoholna pića niti u propisima Europske Unije o jakim alkoholnim pićima. To stvara problem u službenoj kontroli hrane. Jedino MSDA (Manuel Suisse des Denrées Alimentaires) pruža određene specifikacije za apsint, u pogledu njegovog sadržaja tujona. Prema toj definiciji, tipični apsint ne sadrži više od 15 mg/l tujona (Lachenmeier i sur., 2006). Apsint proizveden od eteričnih ulja hladnim miješanjem sadrži 1.8-45 mg/l tujona, a apsint proizveden destilacijom ljekovitog bilja sadrži 2-34 mg/l tujona (Lachenmeier i sur., 2005). Istraživanjem različitih proizvoda na tržištu

zaključeno je da postoji korelacija između kvalitete i sadržaja tujona u apsintu. Apsinti visoke kvalitete pokazuju veliku razliku u koncentraciji ovog spoja dok inferiorni proizvodi koji se proizvode samo maceracijom mogu sadržavati veću koncentraciju tujona od onih koji su destilirani. Kod proizvoda koji sadrži manje od 2 mg/l tujona postavlja se pitanje sadrže li takvi proizvodi pelin. Određivanje kvalitete proizvoda mora se temeljiti na više karakteristika poput organoleptičkih svojstava te na prisutnosti drugih karakterističnih spojeva apsinta. Dok se ne odredi više faktora za autentičnost ovog proizvoda, sadržaj tujona može dati nagovještaj o kvaliteti.

Osnovna definicija za ovaj proizvod, koja se koristi u današnje vrijeme, dobivena je na temelju švicarskog Zakona za zabranu apsinta. Prema ovom zakonu, svako alkoholno piće, bez obzira na način proizvodnje, koje sadrži aromatične spojeve pelina u kombinaciji sa drugim aromatičnim spojevima dobivenim od biljaka poput anisa i komorača definira se kao apsint (Lachenmeier i sur., 2006). Ovaj zakon potvrđuje da je i tada jedan od odlučujućih faktora identifikacije među aromatskim spojevima bio tujon.

Jedan od bitnih faktora za određivanje kvalitete apsinta je omjer izomera tujona, jer iz toga možemo odrediti podrijetlo prisutnog tujona. Ako u apsintu prevladava stereoizomer  $\beta$ -tujon onda je proizvod dobiven od pelina. U drugim slučajevima, mora se razlikovati rijetko prisutan  $\alpha$ -tujon kemotip pelina i krivotvorine sa cedrom ili drugim biljkama koje sadrže tujon.

Istraživanjem proizvoda koji se danas nalaze na tržištu zaključeno je da većina ne prelazi maksimalne granice tujona uspostavljene od strane Europske Unije, što iznosi 35 mg/l (Emmert i sur, 2004). Zanimljivo je da više od polovice proizvoda sadrži manje od 2 mg/l tujona. Neki od proizvoda sadrže više od dozvoljene koncentracije tujona, te bi se zato ovaj parametar ipak trebao koristiti u kontroli kvalitete proizvoda.

Za utvrđivanje autentičnosti apsinta, osim tujona, mogu se koristiti drugi karakteristični spojevi eteričnog ulja pelina kao markeri. Drugi markeri mogu biti gorki spojevi ili karakteristične tvari poput tetrahidrofuran lignana, flavon glukozida ili oligosaharida (Lachenmeier i sur. 2006). Gorki spoj absintin je prikladan marker za određivanje kvalitete apsinta jer je taj spoj prisutan samo u biljci pelin i ne može se dobivati iz drugih izvora. Postoji velika potreba za daljnjim istraživanjem u području identifikacije i karakterizacije karakterističnih spojeva pelina.

| Istraživanje                   | Klasifikacija ukupnog sadržaja tujona (mg/kg) |         |         |        |
|--------------------------------|---|---------|---------|--------|
|                                | <2  | 2-10    | 10-35   | >35    |
| Lang i sur. [35]<br>(n=30)     | 16 (53)                                       | 9 (30)  | 2 (7)   | 3 (10) |
| Kröner i sur.<br>[36] (n=14)   | 5 (37)  | 3 (21)  | 3 (21)  | 3 (21) |
| Emmert i sur.<br>[24] (n=16)   | 7 (44)  | 5 (31)  | 4 (25)  | 0 (0)  |
| CVUA<br>Karlsruhe<br>(n=87)    | 53 (61)                                       | 17 (20) | 16 (18) | 1 (1)  |
| Sva<br>istraživanja<br>(n=147) | 81 (55)                                       | 34 (23) | 25 (17) | 7 (5)  |

Tablica 3. Koncentracije tujona u apsintu u provedenim istraživanjima (Vrijednosti u zagradi su u postotku) (Lachenmeier i sur.,2006)

| Parametar                 | Vrijednost<br>gorčine/Absintin | Vrijednost<br>gorčine/ $\alpha$ -tujon | Vrijednost<br>gorčine/ $\beta$ -tujon |
|---------------------------|--------------------------------|--|---------------------------------------|
| Koeficijent<br>korelacije | 0.75                           | 0.22                                   | 0.06                                  |
| Vjerojatnost              | <0.0001                        | 0.31                                   | 0.79                                  |

Tablica 4. Linearna korelacija između gorčine i koncentracije absintina,  $\alpha$ -tujona i  $\beta$ -tujona (Lachenmeier, 2007)

## 11. Mogućnosti smanjenja koncentracije tujona

Veliki problem s kojim se suočavaju današnji proizvođači je proizvodnja proizvoda sa karakterističnom aromom pelina bez prekoračenja maksimalnog limita koncentracije tujona od 35 mg/l. Opsežno se istražuje selektivno obogaćivanje gorkim spojevima i spojevima arome uz održavanje koncentracije tujona niskom.

Perkolacijom sa vodom ili 30%-tnim alkoholom tujon se ne može ekstrahirati. Samo upotrebom 90%-tnog etanola bilo je moguće ekstrahirati 0.18 mg tujona po gramu biljke

pelina. Digestijom sa 30%-tnim etanolom 0.17 mg tujona ekstrahira se po gramu biljke pelina. Dok se najveće koncentracije tujona dobivaju destilacijom macerata pelina i one iznose 0.24 mg po gramu biljke (Lachenmeier i sur., 2006).

Upotreba vrućeg alkohola visoke koncentracije treba se izbjegavati kako bi se dobili ekstrakti s niskom koncentracijom tujona. Perkolacija sa 30%-tnim etanolom se smatra puno boljim izborom te je uz to ova metoda vrlo jednostavna i ekonomična, dok perkolacija sa čistom vodom može dovesti do gubitka mikrobiološke kvalitete. Istraživanja o ekstrakciji tujona proveli su Gambelunghe i Melai (2002). Maceracijom pelina sa 20%-tnim etanolom kroz 30 dana sadržaj tujona je iznosio samo 0.2 mg/l, dok je maceracijom pelina sa 95%-tim etanolom kroz 6 mjeseci sadržaj tujona bio puno veći i iznosio je 62 mg/l. Vrlo je bitno da se maceracija provodi sa alkoholom niske koncentracije. Osim toga, biljka pelin se prije same destilacije mora ukloniti. Zbog navedenih problema proizvođači moraju modificirati metode proizvodnje i tradicionalne recepte kako bi izbjegli previsoke koncentracije tujona u proizvodu.

Stahl i Gerard (1983) su zaključili da se tradicionalni recepti proizvodnje ovog jakog alkoholnog pića mogu i dalje primjenjivati ukoliko se tujon ukloni iz biljke pelina prije postupka maceracije. Ekstrakcija sa tekućim ili superkritičnim dušikom je brza, selektivna i kvantitativna metoda separacije tujona iz biljke. Provođenje ovih postupaka ne utječe na absintin, spoj odgovoran za jaku gorčinu pelina, te on ostaje u biljci. Međutim, upotreba ove metode u proizvodnji jakih alkoholnih pića nije nikad u potpunosti objašnjena.

S druge strane, možda najbolji način za izbjegavanje toksičnog tujona je upotreba biljke pelina koja ne sadrži tujon u svom sastavu, što je moguće u određenim područjima uzgoja (Lachenmeier i sur., 2006). To je možda i najbolji izbor u proizvodnji, jer bi sa tim kemotipovima bilo moguće proizvesti absint po tradicionalnim receptima, bez rizika prekoračenja limita koncentracije tujona.

## 12. Analitičke metode određivanja spojeva u apsintu

### 12.1. Tujon

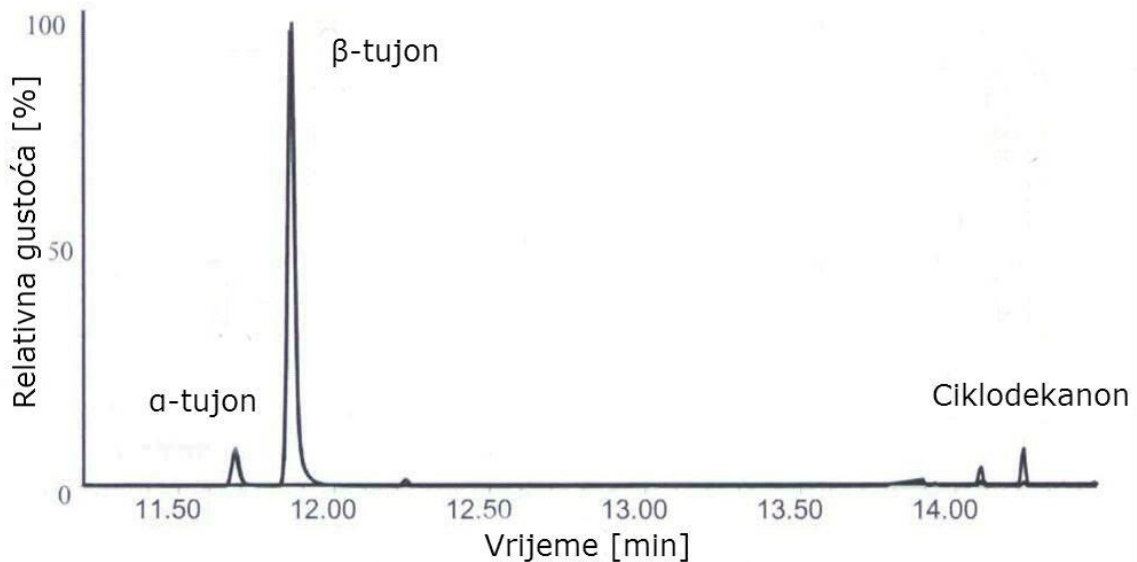
Metode koje su se koristile za određivanje tujona u apsintu su bazirane na jodometrijskoj titraciji, reakcijama obojenja i papirnoj kromatografiji. Te metode su imale granicu detekcije samo od 20 mg/l te su zato bile neprikladne za osjetljivu detekciju manjih koncentracija. Početkom 19. stoljeća najmodernije metode su bile bazirane na reakciji tujona sa natrijevim nitroprusidom, natrijevim hidroksidom i octenom kiselinom što je pružilo granicu detekcije od 5 mg/l (Lachenmeier i sur, 2006). Ova reakcija obojenja je visoko nespecifična jer druga eterična ulja, aldehidi i ketoni dovode do slične reakcije kao i tujon. Stoga, pozitivna reakcija u analizi tujona ne znači da je ovo jako alkoholno piće proizvedeno od biljke pelin, ali negativna reakcija može biti dokaz odsutnosti eteričnog ulja pelina.

Jedini način na koji je moguće odrediti prisutnost i koncentraciju tujona u jakim alkoholnim pićima su moderne metode kromatografije. Za kvantitativno određivanje tujona u apsintu koristi se plinska kromatografija, dok za kvalitativno tankoslojna kromatografija i tekućinska kromatografija sa fluorescentnim detektorom (Emmert i sur, 2004).

Merat i suradnici su već 1976. godine koristili plinsku kromatografiju sa plamenionizacijskim detektorom za određivanje tujona u jakim alkoholnim pićima. Priprema uzorka je uključivala njihovu destilaciju i ekstrakciju. Dok su Galli i suradnici (1984) opisali metodu određivanja pomoću plinske kromatografije sa masenom spektrometrijom. Uzorci se neutraliziraju i ekstrahiraju pomoću dietil etera. Organski ekstrakt je koncentriran i direktno se ubrizgava u plinski kromatograf. Tetralin se koristi kao standard jer pokazuje intenzivan pik u masenom spektru i posjeduje slično retencijsko vrijeme kao i analit.

Priprema uzoraka ima bitan utjecan na selektivnost analize jer se može dogoditi da druge komponente eluiraju zajedno s  $\alpha$ -tujonom i  $\beta$ -tujonom. Headspace mikroekstrakcija na čvrstoj fazi (HP-SPME) se može koristiti kao alternativna metoda pripreme uzorka. Ova metoda se dokazala prilikom analize terpenoida (Lachenmeier i sur., 2006). Sa potpuno automatiziranom HS-SPME metodom apsorpcija tujona se postiže sa polidimetilsiloksaniranim SPME-vlaknima koja su izložena headspaceu koji se nalazi iznad uzorka kako bi se obogatio analit. Nakon ove ekstrakcije bez otapala, desorpcija se postiže prodiranjem vlakna u vrući injektor

plinske kromatografije i masene spektrometrije. Granica detekcije ove metode je 0.7  $\mu\text{g/l}$ , te zbog svoje visoke osjetljivosti ova metoda omogućuje određivanje tujona u uzorcima krvi.



Slika 9. Karakteristični HS-SPME/GC/MS-SIM kromatogram autentičnog absinta (55% vol.) (Lachenmeier i sur., 2006)

## 12.2. Absintin

Metode određivanja dominantnog gorkog spoja absintina u jakim alkoholnim pićima još se nisu dovoljno razvile. Tankoslojna kromatografija je tradicionalna metoda za određivanje seskviterpenskih laktona pri čemu se upotrebljavaju reagensi poput vanilina/o-fosforne kiseline, anisaldehyda, sumporne kiseline, resorcin-sumporne ili fosforne kiseline, aluminij klorida, ili hidrosilamina (Lachenmeier, 2007).

### 12.3. Alkohol i hlapivi kongeneri

Određivanje količine alkohola je najvažniji parametar u ispitivanju jakih alkoholnih pića. Dio njemačkog službenog sistema za kontrolu hrane je moralo staviti prigovor na 15% svih uzoraka apsinta zbog preniske količine alkohola.

U 19. stoljeću, reakcije obojenja patočnog ulja pomoću salicilaldehida i sumporne kiseline koristile su se za određivanje kvalitete alkohola u apsintu. Danas se viši alkoholi i nusproizvodi fermentacije najčešće određuju pomoću plinske kromatografije sa plamen-ionizacijskim detektorom. Uzorci se mogu pripremiti pomoću destilacije te mogu biti analizirani vršnom plinskom kromatografijom (Lachenmeier i sur, 2006).

Skopp i suradnici su istražili alkoholne kongenere 56 različitih apsinta i zaključili su da je ovo jako alkoholno piće uglavnom proizvedeno na bazi etilnog alkohola. S obzirom na državu proizvodnje postojale su neke razlike u proizvodima. Kod austrijskih, švicarskih i španjolskih proizvoda nisu prisutni drugi kongeneri osim metanola, dok su proizvodi iz Bugarske vrlo bogati kongenerima. Od 56 proizvoda koje su istražili, sedam od njih sadržavali su samo etanol, dok su drugi uzorci sadržavali barem metanol kao kongener. Samo 10 proizvoda sadržavalo je dodatne kogenere i svi oni u svom sastavu imali su izo-butanol. 1-propanol i 2-metilbutanol-1 su otkriveni u 7 proizvoda, dok je 3-metilbutanol prisutan u 8. Butanol-2 nije prisutan u nijednom od uzoraka, dok je butanol-1 otkriven u jednom apsintu češkog podrijetla.

### 12.4. Upotreba umjetnih bojila

Vrlo je važno utvrditi jesu li se u proizvodnju koristila umjetna bojila jer nam to govori o načinu proizvodnje i samoj kvaliteti proizvoda. Upotreba umjetnih bojila najčešće se analizira tankoslojnom kromatografijom ili sa UV/VIS spektroskopijom.

Istraživanja su dokazala da mnogi proizvodi, pogotovo iz Češke i Španjolske, na svojim etiketama nemaju označeno da su u njima korištena umjetna bojila. Među uzorcima koje je analizirala CVUA Karlsruhe, 41% proizvoda nije imalo pravilno označenu upotrebu bojila na etiketi, dok su u nekim proizvodima korištene druge boje od onih koje su napisane na samoj etiketi (Lachenmeier i sur, 2006).

## 13. Zaključak

Nakon 70 godina prohibicije ovog proizvoda, lagano započinje ponovno oživljavanje apsinta. Tijekom godina provedena su mnoga istraživanja apsinta i njegovog kemijskog sastava, posebice tujona koji se smatrao vrlo toksičnim i glavnim krivcem za zabranu samog proizvoda. Zapravo tujon nije toliko opasan i ne nalazi se u apsintu u toliko visokim koncentracijama kao što se mislilo. Istraživanja su pokazala da apsint nije problematičan zbog svojeg sadržaja tujona, koji se u većini današnjih proizvoda nalazi u dozvoljenoj količini, već kao sva ostala jaka alkoholna pića zbog moguće pretjerane konzumacije alkohola.

Još jedan problem ovog jakog alkoholnog pića je postojanje nepotpunih ili nepostojanje Pravilnika o proizvodnji te klasifikaciji i označavaju apsinta. Na tržištu danas, osim kvalitetnih proizvoda, može se naći mnogo falsificiranih proizvoda koji nisu proizvedeni tradicionalnim metodama proizvodnje destilacijom te u kojima su upotrebljena umjetna bojila i aditivi. Takvi proizvodi su jeftiniji i lošije kvalitete te mogu imati negativan utjecaj na zdravlje. Jedina zemlja koja ima Pravilnik o proizvodnji je Švicarska, zemlja podrijetla apsinta, koji kaže da je destilacija jedina dopuštena metoda proizvodnje. Nepostojanje Pravilnika u drugim zemljama omogućava proizvođačima da na proizvode dobivene hladnim miješanjem stavljaju oznaku „destilirano“ i prodaju ga po cijeni autentičnog koji je dobiven destilacijom direktno iz bilja.

Navedena problematika u proizvodnji i distribuciji apsinta sigurno neće biti riješena dok sve ostale zemlje u kojima se vrši proizvodnja ne budu imale jasno utvrđene parametre proizvodnje te klasifikacije kao što je to učinila Švicarska.



## 14. Popis literature

1. Absinthe.se (2003) Absinthe FAQ,  
< <http://www.absinthe.se/absinthe-faq> > Pristupljeno 13. svibnja 2015.
2. Aćimović, M., Tešević, V., Todosijević, M., Djisalov, J., Oljača, S. (2015) Compositional characteristics of the essential oil of *Pimpinella anisum* and *Foeniculum vulgare* grown in Serbia. *Bot. Serb.* **39**, 9-14
3. Chialva, F., Liddle, P.A.P., Doglia, G. (1983) Chemotaxonomy of wormwood (*Artemisia absinthium* L.). *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **176**, 363-366
4. Emmert, J., Sartor, G., Sporer, F., Gummersbach, J. (2004) Determination of  $\alpha$ - $\beta$ -Thujone and Related Terpenes in Absinthe using Solid Phase Extraction and Gas Chromatography. *Dtsch Lebensmitt Rundsch.* **100**, 352-356
5. Grover, S., Malik, C.P., Hora, A., Kushwaha, H.B. (2013) Botany, cultivation, chemical constituents and genetic diversity in fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.): A Review. *Int. J.Life Sci.* **2**, 128-139
6. Köhler, F.E. (1887) Köhler's Medizinal-Pflanzen, 1.izd., Gera-Untermhaus, Gera.
7. Lachenmeier, D. (2007) Assessing the authenticity of absinthe using sensory evaluation and HPTLC analysis of the bitter principle absinthin. *Food Res. Int.* **40**, 167-175
8. Lachenmeier, D.W., Emmert, J., Kuballa, T., Sartor, G. (2005) Thujone – Cause of absinthism?. *Forensic Sci. Int.* **158**, 1-8
9. Lachenmeier, D., Walch, S., Padosch, S., Kröner, L. (2006) Absinthe – A Review. *Food Sci. Nutr.* **46**, 365-377.
10. Patočka, J., Plucar, B. (2003) Pharmacology and toxicology of absinthe. *J. Appl. Biomedicine* **1**, 199-205
11. Tateo, F., Riva, G. (1991) Influence of the drying process on the quality of essential oils in *Artemisia absinthium*. *Mitt. Geb. Lebensm. Hyg.* **82**, 607-614
12. Thujone.info (2002-2008) Absinthe History and FAQ I,  
< [http://thujone.info/absinthe\\_FAQ1.html](http://thujone.info/absinthe_FAQ1.html) >. Pristupljeno 11. svibnja 2015.
13. Wikipedia (2015) Absinthe,  
< <https://en.wikipedia.org/wiki/Absinthe> >. Pristupljeno 13. svibnja 2015.