

N-Nitrosodimethylamin in Blick auf Gerstensorten und

URSACHENFORSCHUNG | Nitrosamine bzw. N-Nitrosodimethylamin (NDMA) in Lebensmitteln und somit auch in Malz und Bier sind aufgrund ihrer vermutlich kanzerogenen Wirkung ein stets aktuelles Thema. Die NDMA-Belastung in Malz konnte Ende der 1970er-Jahre durch Umstellen der Darrbeheizungsart in vielen Mälzereien von direkter Befuerung mit Öl oder Gas auf indirekte Beheizung mit Wärmetauschern deutlich minimiert werden. Trotzdem werden nach wie vor gelegentlich NDMA-Gehalte detektiert, die den technischen Richtwert von 2,5 µg/kg in Malz sowie 0,5 µg/kg in Bier überschreiten [1, 2, 3].

IM RAHMEN einer Diplomarbeit am Forschungszentrum Weihenstephan für Brau- und Lebensmittelqualität (BLQ), Freising, zusammen mit der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) in Freising wurde deshalb eine tiefgehende Ursachenbetrachtung über die Nitrosaminbildung betrieben.

Die Gründe für einen erhöhten NDMA-Gehalt im Malz können vielseitig sein. Es gibt eine Reihe von Faktoren, die bei der Bildung dieser Substanzen eine Rolle spielen. Hierzu zählen u. a. der Standort der Mälzerei (Qualität der Außenluft, Einfluss des Windes und der Wetterlage), die Bauweise und der Standort des Kamins, die eingesetzte Technologie zur Beheizung der Darren (Gas, Öl oder Wärmetauscher) und mögliche Undichtigkeiten an Rohrleitungen.

Autoren: Dr. Hubertus Schneiderbanger, Eva-Maria Kahle, Dr. Martin Zarnkow, Prof. Mehmet Coelhan, Prof. Fritz Jacob, alle TUM Forschungszentrum Weihenstephan für Brau- und Lebensmittelqualität, Freising; Günter Henkelmann, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL), Freising

Weitere ausschlaggebende Parameter sind die Verwendung von Umluft oder die Rückgewinnung der Trocknungsluft, das angewendete Darrprogramm und die produzierten Malzsorten (z. B. Rauchmalz). Viele dieser Parameter wurden bereits in frühe-

ren Forschungsarbeiten wissenschaftlich untersucht [4].

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurden u. a. die NDMA-Gehalte von Malzen verschiedener Anbauggebiete und die Unterschiede in den jeweiligen Gerstensorten untersucht. Vier Standorte mit jeweils zwölf Gerstensorten wurden auf ihre NDMA-Gehalte analysiert und weitere mögliche Einflussfaktoren der NDMA-Bildung wurden in Betracht gezogen. Sämtliche Malzproben wurden hierbei von der LfL zur Verfügung gestellt.

NDMA: Bildung und Entstehung

NDMA entsteht durch Reaktionen von malzeigenen Aminen, wie z. B. Hordenin, und den Stickoxiden der Luft (NO, NO₂ bzw. als Summenformel NO_x) [5, 6]. Weitere mögliche Reaktionswege finden sich bei Poocharoen et al. und Lee [7, 8]. In der Mälzerei entsteht während des Keimprozesses im Wurzelbereich des Gerstenkorns aus der

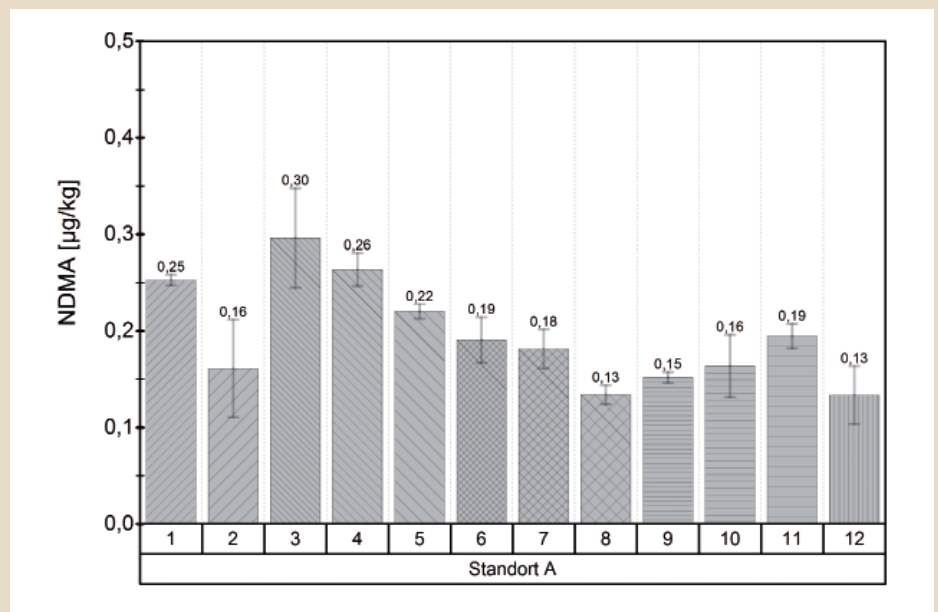


Abb. 1 Standort A mit den NDMA-Gehalten [µg/kg] der Gerstensorten von 1 bis 12, n = 3, α_{Konfi} = 0,05

Malz: Anbaugebiete

Aminosäure Tyrosin die wichtige Aminkomponente Hordenin [2, 6]. Laut Wainwright et al. stellt das Hordenin die Hauptquelle von NDMA im Malz dar [6, 9]. Infolge der Keimung ist das Hordenin im Wurzel- und Blattkeimling des Kornes beträchtlich angereichert. Die finale Bildung von NDMA ist von mehreren Parametern abhängig und variiert mit deren Konzentrationen. Hierbei spielen der Aminspegel, die Menge der Stickoxide (kritischer Wert von 150 ppb NO_x), die Temperatur ($>60^\circ\text{C}$), der pH-Wert (pH-Optimum = 3-5) und die Kontaktzeit der Stickoxide eine wichtige Rolle. Im Vergleich zwischen verschiedenen Malzsorten (Weizen-, Roggen-, Gerstenmalz etc.) ist der NDMA-Gehalt im Gerstenmalz durchschnittlich höher konzentriert, da hier üblicherweise auch höhere Konzentrationen an Vorläuferaminen vorliegen. Wie durch viele wissenschaftliche Studien gezeigt werden konnte, können bei diesen Reaktionen Nitrosamine entstehen [10-13]. Diese Bildung sollte aus gesundheitlicher (Konsument) und qualitätsbewusster (Produzent) Sichtweise gehemmt bzw. auf ein Minimum reduziert werden.

Modifizierung einer Analysemethoden

Um eine geeignete Methodik zur empfindlicheren Analyse der NDMA-Gehalte in Malzproben zu finden, wurden die Analysemethoden nach Mebak-Methode 3.1.4.18 und EBC-Methode 4.23 einem Vergleich mit verschiedenen Ansätzen unterzogen [14, 15]. Bei der EBC-Methode wurden Parameter wie Menge der Körnergabe und Injektionszeitpunkt des internen Standards variiert. Für den Vergleich wurde ein Gerstenmalz verwendet, das höhere Nitrosamingehalte aufweisen sollte. Diese Erwartung basierte auf vorausgegangenen laborinternen Analysen. Zum weiteren Vergleich wurde ein

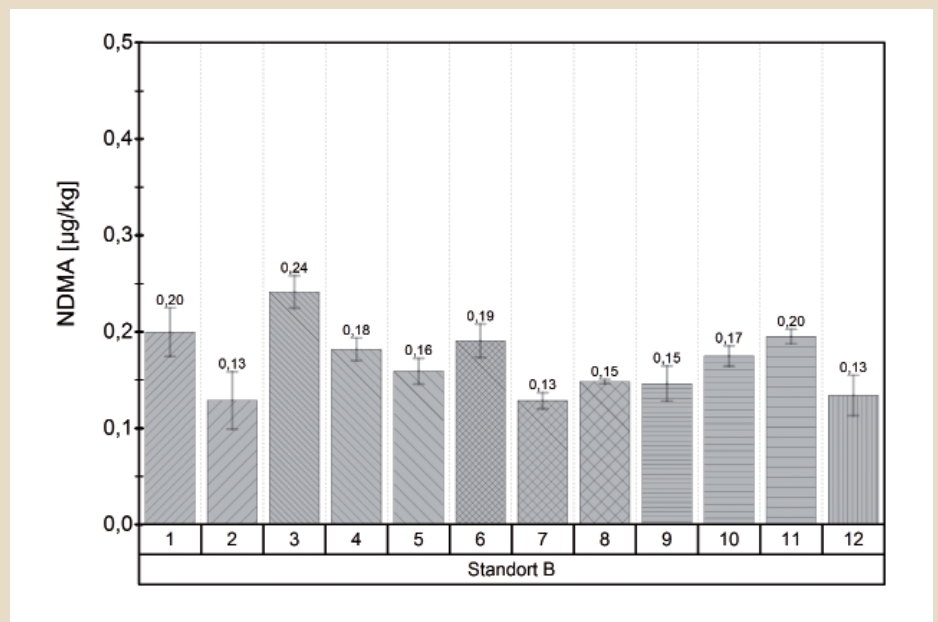


Abb. 2 Standort B mit den NDMA-Gehalten [µg/kg] der Gerstensorten von 1 bis 12, $n = 3$, $\alpha_{\text{Konfi}} = 0,05$

Gerstenmalz mit geringeren Nitrosamingehalten herangezogen. Ebenso wurde ein konventionelles Weizenmalz analysiert, das aufgrund der geringen Hordenin-Anreicherung im Korn wenige bis keine Nitrosamine zeigen sollte. Durch die Vergleiche (Variation der Körnermenge, des Injektionszeitpunktes) wurde die EBC-Methode mit einem Quantum von 20 g Körnern und einer Gabe des internen Standards vor der Extraktion präferiert. Mit der EBC-Methode konnten aus fünf Abwägungen jeweils vier Gehalte mit genaueren bzw. höheren Werten in Hinsicht auf den Referenzwert erzielt werden. Anschließend wurde für das qualifizierte Verfahren die Bestimmungs-, Erfassungs- und Nachweisgrenze ermittelt und für die Versuchsreihen zum Vergleich der Standorte herangezogen. Mithilfe der neuen Analysemethoden konnte die Nachweisgrenze im Vergleich zu den gängigen Methoden deutlich reduziert werden (Nachweisgrenze modifizierte EBC-Methode: 0,1 µg/kg). Diese ist

somit spezifischer und kann den Nachweis zur besseren Empfindlichkeit und genaueren Messanalytik stützen.

Vergleich der Standorte mit den NDMA-Gehalten

Die Malzproben wurden auf deren NDMA-Gehalte mit der modifizierten Analyseme-

ERRECHNETER MITTELWERT ...

... der Standorte, $n = 3$, $\alpha_{\text{Konfi}} = 0,05$

Standort	NDMA Mittelwert \bar{x} [µg/kg]	p-Wert
C	0,27	0,02
A	0,20	0,02
D	0,18	0,02
B	0,17	0,02

Tab. 1

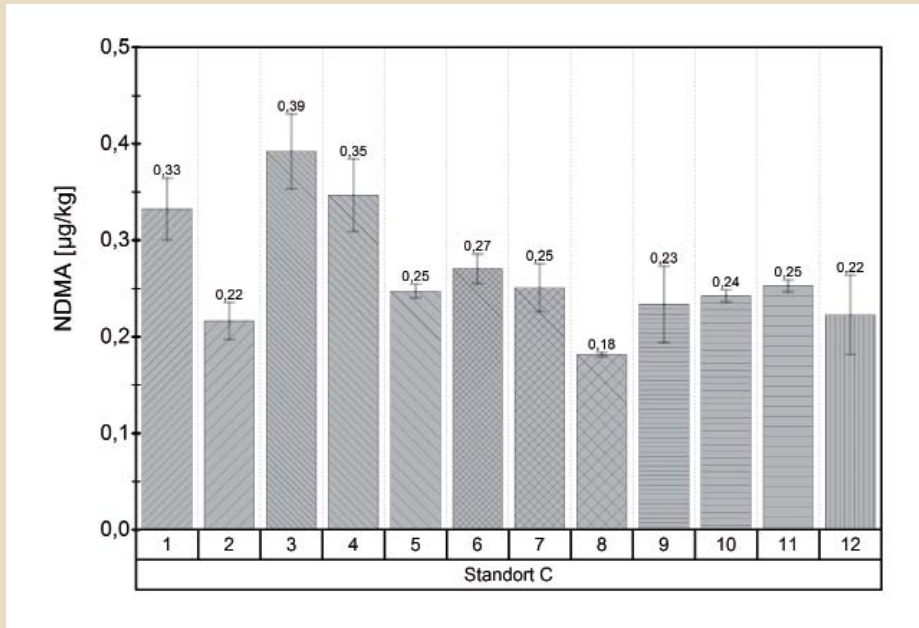


Abb. 3 Standort C mit den NDMA-Gehalten [µg/kg] der Gerstensorten von 1 bis 12, n = 3, α_{Konfi} = 0,05

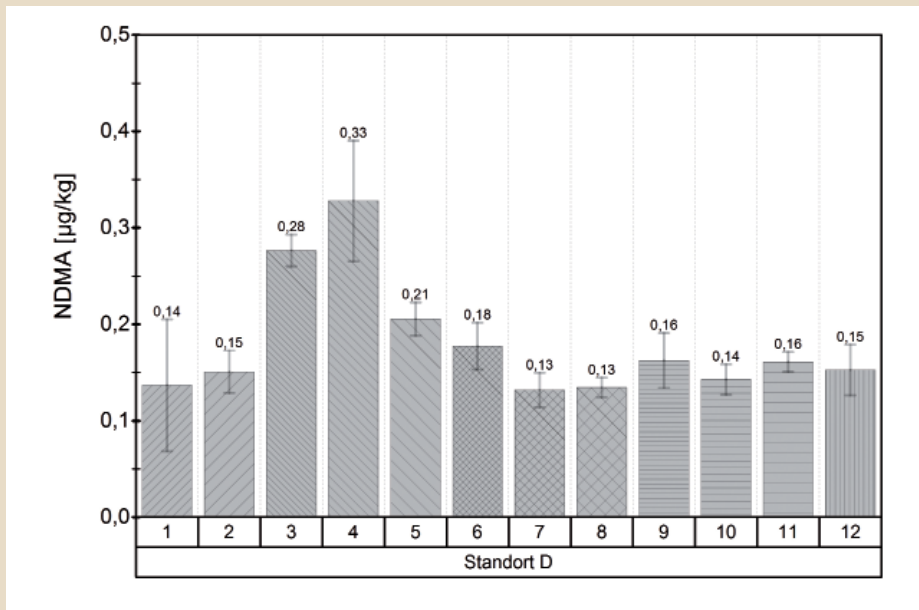


Abb. 4 Standort D mit den NDMA-Gehalten [µg/kg] der Gerstensorten von 1 bis 12, n = 3, α_{Konfi} = 0,05

GEGENÜBERSTELLUNG DES N _{MIN} -GEHALTES ...		
... mit den gemittelten NDMA-Werten		
Standort	NDMA Mittelwert \bar{x} [µg/kg]	N _{min} [kg/ha]
C	0,27	118
A	0,20	80
D	0,18	56
B	0,17	25

Tab. 2

thode nach EBC untersucht. Alle vier eruierten Standorte befinden sich in Bayern. Die Aussaat erfolgte bei allen Standorten zeitgerecht Ende März bis Anfang April. Die Ernte fand bei guten Bedingungen statt (Ende Juli bis Anfang August) [16]. Zu jedem Standort wurde eine Grafik erstellt, welche die Gerstensorten mit den analysierten NDMA-Gehalten zeigt (vgl. Abb. 1-4).

Tabelle 1 zeigt einen Vergleich der errechneten Mittelwerte \bar{x} der Standorte untereinander. Aus dieser Auflistung ist ersichtlich,

dass Standort C (0,27 µg/kg) durchschnittlich die höchsten NDMA-Gehalte aufweist. Darauf folgt Standort A (0,20 µg/kg) und Standort D (0,18 µg/kg). Der niedrigste NDMA-Gehalt war bei Standort B (0,17 µg/kg) zu finden. Im Allgemeinen wurde ein sehr geringer NDMA-Gehalt festgestellt, welcher deutlich unter dem technischen Richtwert von Malz <2,5 µg/kg liegt [2].

Korrelation mit dem N_{min}-Gehalt

Ein möglicher Grund für unterschiedliche NDMA-Konzentrationen zwischen den Standorten bei identischen Gerstensorten könnte der N_{min}-Gehalt (Ammonium und Nitrat) sein. Laut Düngeverordnung (Stand 27.2.2007) §3 Abs. 3 wird der N_{min}-Gehalt wie folgt definiert: „Vor der Ausbringung wesentlicher Nährstoffmengen sind die im Boden verfügbaren Nährstoffmengen vom Betrieb zu ermitteln“ [17]. Der N_{min}-Gehalt beschreibt die Auswirkungen unterschiedlicher Bewirtschaftung im Boden nach der Ernte, zum Vegetationsende (Mitte November) und zum Vegetationsbeginn (vor der ersten N-Gabe) [17]. Bei den untersuchten Gerstensorten handelte es sich um einen ökologischen Anbau, d. h. eine zusätzliche Düngung war nur nach den Angaben der Düngeverordnung unter ökologischen Aspekten erlaubt [18]. Der vorliegende N_{min}-Gehalt gibt den Wert zu Vegetationsbeginn im Frühjahr 2015 an und ist Tabelle 2 zu entnehmen.

Aus dieser Aufstellung ist ein Zusammenhang der N_{min}-Gehalte mit den NDMA-Werten ersichtlich. Standort C mit dem höchsten NDMA-Wert hat ebenso den höchsten N_{min}-Gehalt. Der Anbau von Zwischenfrüchten (A = Klee grasgemenge, B = Winterweizen, C = Sommerweizen, D = Dinkel) kann laut Untersuchungen der LfL den N_{min}-Gehalt verringern [19]. Dies konnte bei den Standorten C und A nicht bestätigt werden (118 kg/ha; 80 kg/ha). Eine Düngung über das Optimum hinaus ergibt eine deutliche Erhöhung der N_{min}-Gehalte im Boden und kann somit außerdem Einfluss auf die NDMA-Bildung haben [19].

Unterschiede zwischen Gerstensorten

Auch zwischen den einzelnen Sorten waren z. T. deutliche Unterschiede hinsichtlich des NDMA-Gehaltes erkennbar. Signifikante Unterschiede zeigten sich u. a. zwischen der Sorte 3 (siehe Abb. 5) und der Sorte 8

(siehe Abb. 6). Es ist deutlich zu erkennen, dass die Sorte 3 unter identischen Anbaubedingungen stets signifikant höhere NDMA-Konzentrationen aufwies (auch wenn sich die Werte auf einem allgemein niedrigen Niveau befinden). In Abbildung 5 und 6 sind die jeweiligen NDMA-Gehalte dieser beiden Gerstensorten aus den verschiedenen Standorten A, B, C und D sowie die jeweiligen N_{\min} -Gehalte dargestellt. Hieraus ist ersichtlich, dass bei Standort C die höchsten NDMA-Gehalte gegenüber den anderen Standorten vorliegen, welche wiederum auf einen erhöhten N_{\min} -Gehalt zurückzuführen sind.

Fazit

Im Rahmen dieser Arbeit konnte eine modifizierte Methode zur Bestimmung von NDMA im Malz entwickelt werden, die eine deutlich niedrigere Nachweisgrenze im Vergleich zu den etablierten Methoden besitzt (0,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Die Untersuchungen von verschiedenen Gerstensorten an vier verschiedenen Standorten zeigten, dass der Gehalt an NDMA unter den standardisierten Bedingungen, die bei den Kleinmälzungen

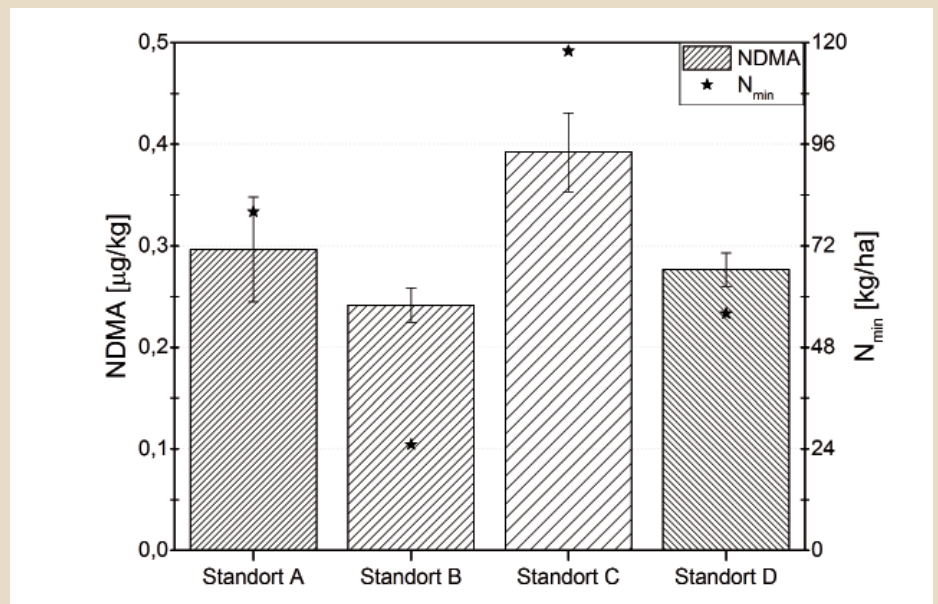


Abb. 5 Gerstensorte 3 mit den NDMA-Gehalten [$\mu\text{g}/\text{kg}$] der Standorte A, B, C und D und der Korrelation mit N_{\min} , $n = 3$, $\alpha_{\text{Konf}} = 0,05$

vorherrschten, allgemein sehr gering war. Die niedrigen NDMA-Konzentrationen der Malzproben waren auch auf niedrige Stickoxidwerte während des Mälzungsprozesses zurückzuführen. Dies zeigte sich bei einer

Messung der Stickoxide in der LfL mithilfe eines Stickoxidanalysators der Ansyco analytische Systeme und Componenten GmbH, Karlsruhe. Während des Mälzungsprozesses lagen die NO_x -Werte weit unter dem

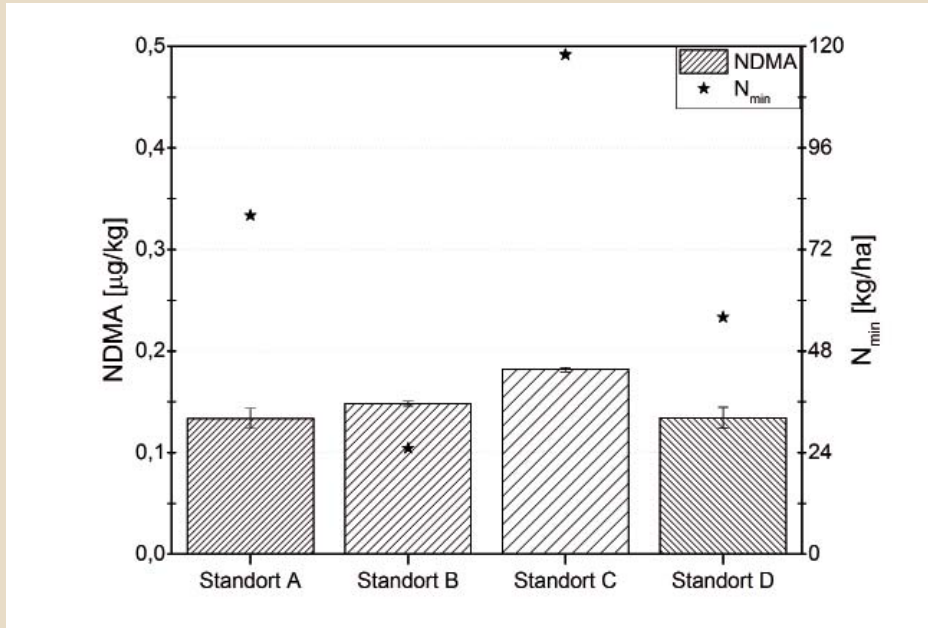


Abb. 6 Gerstensorte 8 mit den NDMA-Gehalten [$\mu\text{g}/\text{kg}$] der Standorte A, B, C und D und der Korrelation mit N_{min} , $n = 3$, $\alpha_{\text{Konfi}} = 0,05$

kritischen Wert von 150 ppb (Mittelwert: < 20 ppb) [2, 20, 21]. Somit waren auch keine hohen NDMA-Konzentrationen in den Malzproben zu erwarten. Dennoch zeigte sich, dass sowohl der Standort wie auch die Gerstensorte durchaus einen Einfluss auf die NDMA-Bildung haben können. Auffällig war, dass der Standort C die höchsten NDMA-Werte aufwies. Eine mögliche Ursache hierfür könnte in den N_{min} -Werten gefunden werden. Die Sorte 3 wies bei drei von vier Standorten (A, B und C) den höchsten NDMA-Gehalt auf, der jedoch immer noch weit unter den technischen Richtwerten rangierte. ■

Literatur

1. DFG - Deutsche Forschungsgemeinschaft: Das Nitrosaminproblem, Weinheim 1983.
2. Flad, W.: „Minimierung der Stickoxidkonzentration in der Trocknungsluft von Mälzerei-Darranlagen zum Zweck der Herstellung nitrosaminarmer Malze“, Dissertation, TU München 1987.
3. Preiß, U.: „Nitrosamine in Bier – (k)ein Problem für kleinere Brauereien?“, Ba-

yerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL), Untersuchungsergebnisse 2014.

4. Gastl, M.; Kreis, S.; Hartmann, K.; Spieleder, E.; Schneider, R.; Back, W.: „Verminderung der NDMA-Belastung in Malz und Bier“, BRAUWELT Nr. 19, 2009, S. 518-522.
5. Mangino, M. M.; Scanlan, R. A.: „Nitrosation of the alkaloids hordenine and gramine, potential precursors of N-nitrosodimethylamine in barley malt“, Journal of Agricultural and Food Chemistry 33 (4), 1985, S. 699-705.
6. Slack, P. T.; Wainwright, T.: „Hordenine as the precursor of NDMA in malt“, Journal of the Institute of Brewing 87 (4), 1981, S. 259-63.
7. Poocharoen, B.; Barbour, J. E.; Libbey, L. M.; Scanlan, R. A.: „Precursors of N-nitrosodimethylamine in malted barley. 1. Determination of hordenine and gramine“, Journal of Agricultural and Food Chemistry 40 (11), 1992, S. 2216-2221.
8. Lee J. Y.: „Precursors of N-Nitrosodimethylamine in Malted Barley. 2. Determination of Dimethylamine“, Journal

of Agricultural and Food Chemistry, 40 (11), 1992, S. 2222-2225.

9. Wainwright, T.: „The chemistry of nitrosamine formation: Relevance to malting and brewing“, J. Inst. Brew, Bd. 92, 1986, S. 49-64.
10. Douglass, M. L.; Kabacoff, B. L.; Anderson, G. A.; Cheng, M. C.: „The chemistry of nitrosamine formation, inhibition and destruction“, J. Soc. Cosmet. Chem 29 (9), 1978, S. 581-606.
11. Marinelli, L.: „N-Nitrosamines in malt and beer“, Journal of the American Society of Brewing Chemists 39, 1981, S. 99-106.
12. Magee, P. N.; Barnes, J. M.: „The production of malignant primary hepatic tumors in the rat by feeding dimethyl-nitrosamine“, British Journal of Cancer 10, 1956, S. 104-22.
13. Wainwright, T.: „Nitrosamines in Malt and Beer“, Journal of the Institute of Brewing 92, 1986, S. 73-80.
14. Anger, H.-M. (Hrsg.): Methodensammlung der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission (MEBAK): Brautechnische Analysemethoden, Band Rohstoffe, 2006.
15. European Brewery Convention: Analytica-EBC. 9.23 Nitrate in Beer: Enzymatic Method 1998.
16. LfL: Ökologischer Landbau in Bayern. Sortenversuche zu Sommergerste 2016.
17. LfL: N-Düngung zu Zuckerrüben, Sommergetreide und sonstigen Kulturen. N_{min} -Werte auf dem Niveau des Vorjahres.
18. Die pflanzliche Erzeugung und Förderung im ökologischen Landbau – Allgemeine Vorschriften zur Düngung nach Düngeverordnung 2016.
19. LfL: Zehn Jahre Stickstoff-Monitoring.
20. Narziß, L.; Reicheneder, E.; Kroiher, A.: „Über den Einfluss der Schwefeldioxid- und Sulfatgehalte von Malzen auf die Schwefeldioxid- und Sulfatgehalte in Würzen und Bieren“, Brauwissenschaft Nr. 2, Jg. 34, 1981, S. 33-41.
21. Narziß, L.; Back, W. (Hrsg.): Die Bierbrauerei – Band 1, Die Technologie der Malzbereitung, Weinheim 2012.