

Serologischer Nachweis einer Mitverwendung von Mais oder Reis bei der Bierherstellung

Autor(en): **Schur, F. / Anderegg, P. / Pfenninger, H.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **68 (1977)**

Heft 4

PDF erstellt am: **08.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-982243>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Serologischer Nachweis einer Mitverwendung von Mais oder Reis bei der Bierherstellung*

F. Schur, P. Anderegg und H. Pfenniger

Versuchsstation Schweiz. Brauereien, Zürich

Einleitung und Problemstellung

Nach Artikel 378 der eidgenössischen Lebensmittelverordnung ist Bier, bei dessen Bereitung das Gerstenmalz ganz oder teilweise durch andere Cerealien in roher oder gemälzter Form ersetzt worden ist, entsprechend zu bezeichnen, z. B. als Weizen- oder Reissbier. In vielen Ländern setzt man neben Gerstenmalz auch Mais oder Reis als Rohfrucht ein, was wirtschaftlich meist günstiger und für die Qualität des resultierenden Bieres nicht unbedingt von Nachteil ist. Es lag deshalb die Vermutung nahe, daß viele Importbiere unter Mitverwendung solcher ungemälzter Surrogate erzeugt und ohne vorschriftsgemäße Deklaration in den Handel gebracht werden. Aus diesem Grund war es von Interesse, im Hinblick auf die Wahrung gleicher Wettbewerbsbedingungen für die einheimische Brauindustrie die Importbiere auf Mais und Reis zu untersuchen.

Klassische Analysemethoden

Nachdem die bisher in der Literatur angegebenen Analysemethoden zur Differenzierung von Vollmalz- und Rohfruchtbieren (1) im allgemeinen nicht befriedigten, suchten wir aufgrund von theoretischen Überlegungen nach besser geeigneten Merkmalen. So bestimmten wir von zahlreichen Bieren unter anderem die Gehalte an Gesamtstickstoff (2), Phosphat (3), Prolin (4) sowie Calcium (5) und rechneten sie zum Vergleich auf 12% Stammwürze um.

Die statistische Auswertung der erzielten Analyseergebnisse ergab die in Tabelle 1 zusammengestellten Werte. Danach enthielten die Rohfruchtbiere gegenüber den Vollmalzbieren im Mittel weniger Gesamtstickstoff, Phosphat und Prolin, aber mehr Calcium. Der Test für zwei voneinander unabhängige verteilungsfreie Meßreihen nach *Kolmogoroff* und *Smirnow* (6) zeigte, daß sich die Mittelwerte der Vollmalz- und Rohfruchtbiere in bezug auf Gesamtstickstoff und Phosphat hochsignifikant, hinsichtlich des Prolins sehr signifikant, im Calciumgehalt jedoch nicht eindeutig unterschieden. Wie aus den Standardabweichun-

* Vortrag gehalten an der 89. Jahresversammlung der Schweiz. Gesellschaft für analytische und angewandte Chemie vom 16.—17. September 1977 in Schaffhausen.

Tabelle 1. Statistische Auswertung der Resultate der klassischen Analysen

Kriterium	Gesamt-N		Phosphat	
	Vollmalz	Rohfrucht	Vollmalz	Rohfrucht
\bar{x} mg/l	779	520	564	407
Differenz		***		***
$s \pm$ mg/l	73	127	69	101
n	38	17	38	17

Kriterium	Prolin		Calcium	
	Vollmalz	Rohfrucht	Vollmalz	Rohfrucht
\bar{x} mg/l	422	338	35	49
Differenz		**		
$s \pm$ mg/l	50	78	13	23
n	38	17	24	16

gen ferner zu erkennen ist, muß man aber auch mit einer gewissen Ueberschneidung der Gesamtstickstoff-, Phosphat- und Prolingehalte beider Bierarten rechnen. Dies ist tatsächlich der Fall, wie die in den Abbildungen 1—3 dargestellten Häufigkeitsverteilungskurven demonstrieren.

Aus Abbildung 1 ist ersichtlich, daß sich die Gesamtstickstoffwerte der Vollmalz- und Rohfruchtbieren nur relativ wenig überlagerten (gerasterte Zone). Wie aus Abbildung 2 hervorgeht, ist das beim Phosphatgehalt in etwas stärkerem Maß der Fall. Was die Prolinwerte betrifft (Abb. 3), so fiel die Ueberschneidungszone noch größer aus.

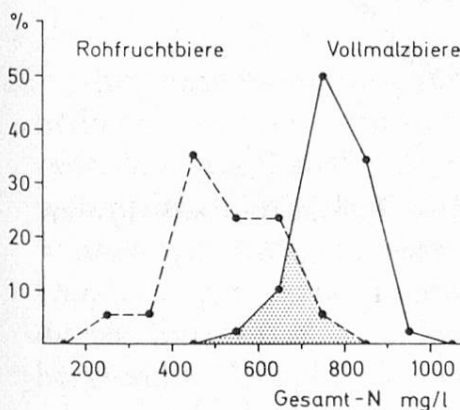


Abb. 1. Häufigkeitsverteilung der Gesamtstickstoffwerte von Vollmalz- und Rohfruchtbieren

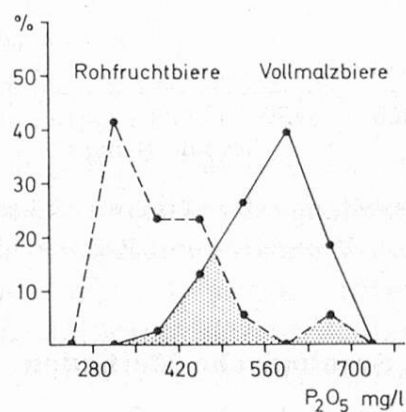


Abb. 2. Häufigkeitsverteilung der Phosphatwerte von Vollmalz- und Rohfruchtbieren

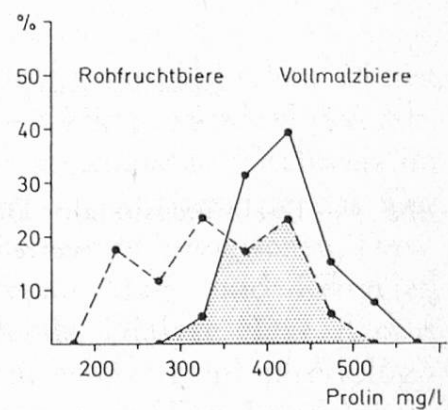


Abb. 3. Häufigkeitsverteilung der Prolinwerte von Vollmalz- und Rohfruchtbieren

Im weiteren versuchten wir, die verschiedenen Gruppen von Bieren durch dreidimensionale Darstellung der Analysenzahlen zu differenzieren (Abb. 4), wobei die Ergebnisse der ebenfalls durchgeführten serologischen Tests mitberücksichtigt wurden. Die schwarzen Punkte stellen Vollmalzbieren, die weißen Mais- oder Reisbieren dar. Die schwarz-weiß markierten Punkte repräsentieren Proben, die sich serologisch weder den Mais- noch den Reisbieren zuordnen ließen. Trotzdem liegen sie deutlich außerhalb des Punkteschwarms der Vollmalzbieren. Es dürfte sich dabei um Proben handeln, für deren Herstellung man Raffinationsprodukte wie z. B. Stärke- oder Glucose-Sirup eingesetzt hat. In einem dieser Fälle wurde das nachträglich auch bestätigt. Enthält ein Bier also weniger als etwa 650 mg Gesamtstickstoff, 450 mg Phosphat und 350 mg Prolin pro Liter, bezogen auf 12% Stammwürze, ist mit großer Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß man bei dessen Produktion einen erheblichen Teil von Malzsurrogaten mitverwendet hat. Eine klare Identifizierung der Rohfruchtbieren ist aber anhand der erwähnten klassischen Analysenmerkmale, selbst bei dreidimensionaler Darstellung der Werte, vielfach nicht zu erreichen.

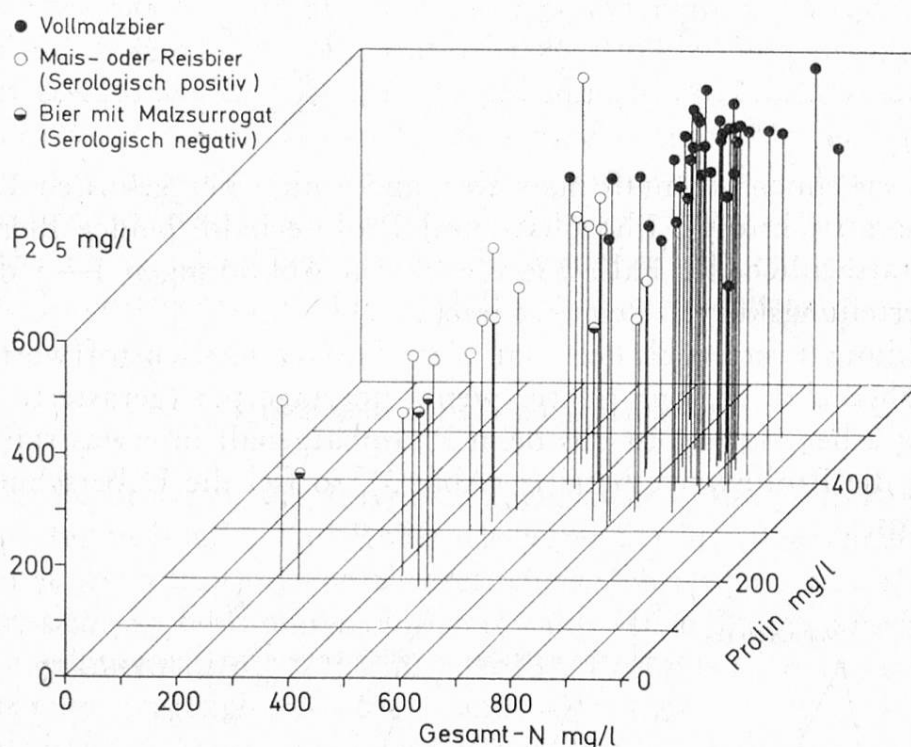


Abb. 4. Dreidimensionale Darstellung der Gesamtstickstoff-, Phosphat- und Prolinwerte von Vollmalz- und Rohfruchtbieren

Serologische Methoden

Eine gute Möglichkeit zum sicheren Nachweis einer Mitverwendung von Mais oder Reis bei der Bierherstellung bieten die sehr spezifischen und empfindlichen serologischen Methoden, die in Medizin, Pharmazie, Molekular- und Mikrobiologie schon lange wertvolle Dienste leisten. In den letzten Jahren

kommen sie auch bei der analytischen Lebensmittelkontrolle immer häufiger zur Anwendung, wo sich damit beispielsweise Hormone, Antibiotika, Enzyme, tierische, pflanzliche und mikrobielle Proteine sowie Pestizide, Psychopharmaka, Dichtungsmittel und Klärpräparate erfassen lassen.

Die bei den immunologischen Verfahren als Reagenz dienenden Antikörper werden von Mensch und Wirbeltier als Abwehrstoffe des Blutes gegen eingedrungene körperfremde Substanzen gebildet. Wie in Abbildung 5 schematisch dargestellt ist, weisen die Antikörper stets zwei gleiche Bindungsstellen für ein bestimmtes Antigen auf. Antigene bestehen aus einem hochmolekularen Träger und sterisch spezifischen niedermolekularen Gruppen, den Determinanten, die sich an der Oberfläche befinden. Außer den Antigenen können sich auch sogenannte Haptene mit den Antikörpern verbinden. Dabei handelt es sich meist um niedermolekulare oder denaturierte Stoffe, die zwar determinierende Gruppen besitzen, selbst aber nicht antigen wirken. Durch Kopplung mit vorzugsweise Proteinen wie z. B. Rinderserumalbumin kann man auch Haptene oder Determinanten eine immunogene Eigenschaft verleihen. Antigene und Haptene reagieren mit den entsprechenden Antikörpern sowohl *in vivo* als auch *in vitro*.

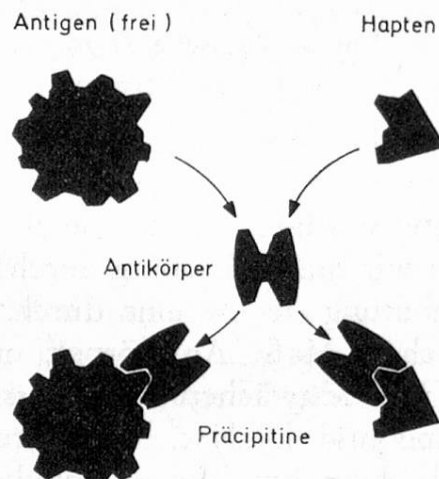
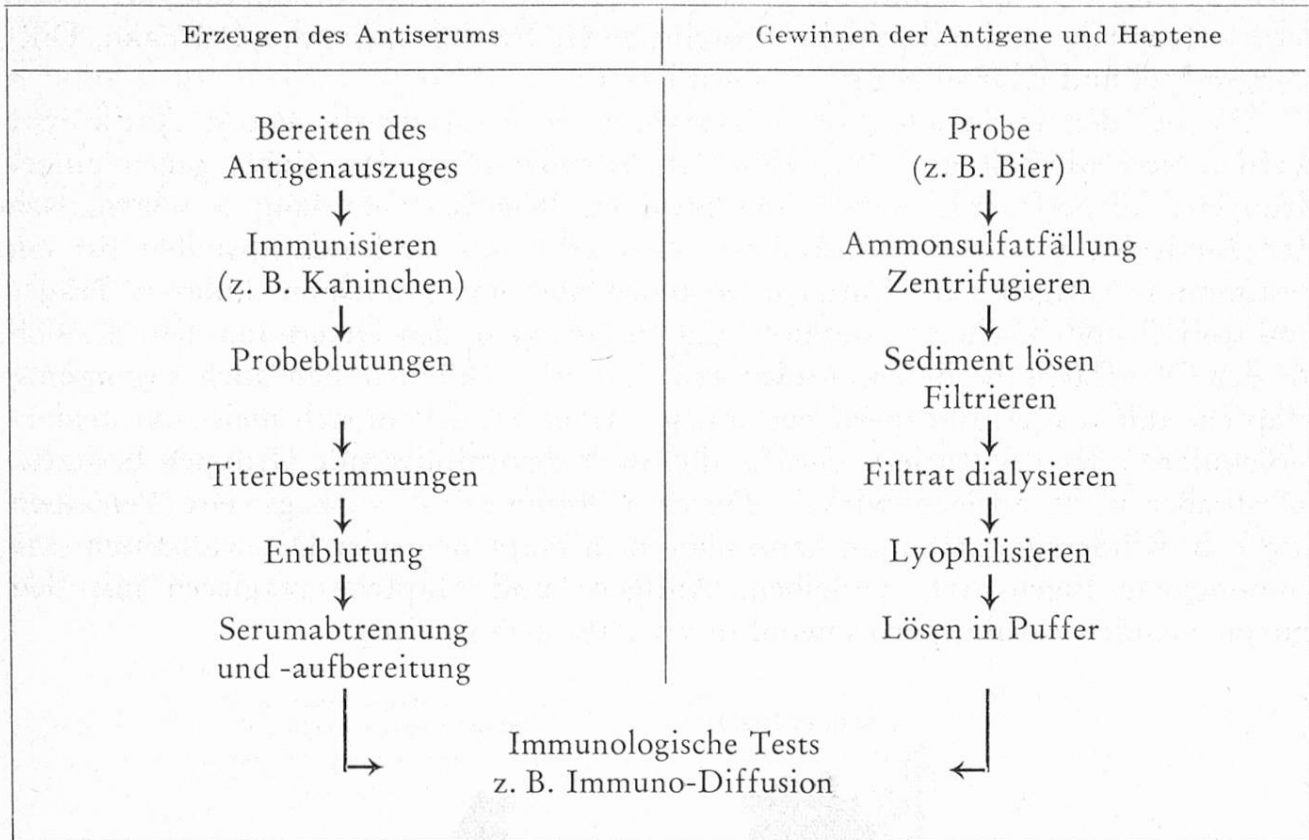


Abb. 5. Schema der Immuno-Reaktion

Bei unseren serologischen Untersuchungen an 59 meist ausländischen Bieren bedienen wir uns größtenteils des von *Donhauser* (7—10) angewandten Verfahrens. Wie aus Tabelle 2 ersichtlich ist, gliedert sich der serologische Nachweis im wesentlichen in drei Abschnitte, nämlich das Erzeugen des Antiserums, das Gewinnen der Antigene und Haptene sowie die eigentlichen immunologischen Tests. Den Antigenauszug bereiteten wir aus zuvor entfettetem Mais- und Reisgrieß durch Extraktion mit Kochsalzlösung und anschließende Dialyse. Das daraus hergestellte Lyophilisat wurde dann nach Suspendieren in 1—2 ml physiologischer Kochsalzlösung jeweils 3—4 Kaninchen nach einem speziellen Impfplan in Portionen von 100—150 mg injiziert. Die Immunisierung dauerte einige Monate. Gegen Ende bestimmte man stets den Titer des Serums, das aus einer etwa 10 Tage nach dem letzten Spritzen aus der Ohrvene des Kaninchens entnommenen Blutprobe gewonnen wurde. Beim Erreichen eines Titers von 500—1000 (ma-

Tabelle 2. Verfahren zum serologischen Rohfruchtnachweis



ximale Verdünnung der Antigenlösung, bei der noch eine positive Immunreaktion zu erkennen ist) führten wir die Entblutung durch Herzpunktion und hierauf die Abtrennung und Aufbereitung des Serums durch. Die einzelnen Kaninchen bilden in sehr unterschiedlichem Maße Antikörper, und man erhält nicht ohne weiteres Seren mit hohem Titer. Schwächere Seren lassen sich durch Ammoniumsulfatfällung der γ -Globuline und Dialyse oder durch Ultrafiltration konzentrieren. Zudem ermöglicht die Kopplung der γ -Globuline mit Fluorescein-Isothiocyanat eine leichte Steigerung der Nachweisempfindlichkeit. Da Antikörper auch mit anderen, aber ähnlichen Antigenen reagieren können, ist es sehr wichtig, die Seren auf allfällige Kreuzreaktionen zu prüfen. Zur Gewinnung der Antigene und Haptene aus dem Bier fällt man diese mittels Ammoniumsulfat aus, zentrifugiert das Präcipitat, löst es in Neutralpuffer, trennt das Unlösliche durch Filtration ab, entfernt das niedermolekulare Material durch Dialyse und erhält dann durch Lyophilisation gut haltbare Präparate. Vor dem serologischen Test wird davon ein Teil in Neutralpuffer gelöst. Von den heute zur Verfügung stehenden immunologischen Verfahren wählten wir die relativ einfache Immuno-Diffusion nach *Ouchterlony*, die für qualitative und halbquantitative Untersuchungen gut geeignet ist.

Wie Abbildung 6 zeigt, füllt man bei diesem Doppel-Diffusionstest das Antiserum in das im Zentrum des Agargels ausgestanzte Loch und die aufbereiteten Proben oder definierte Antigenlösungen in die 6 peripheren Vertiefungen. Auf diese Weise können die Antikörper des Immunserums und die Antigene sowie

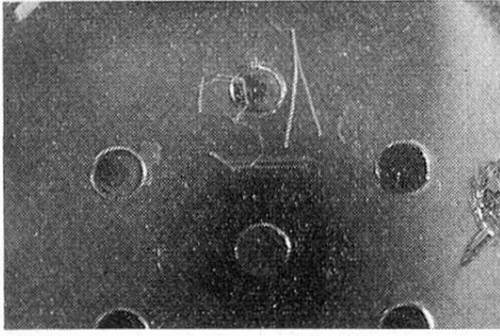


Abb. 6. Titerbestimmung des Reisantiserums

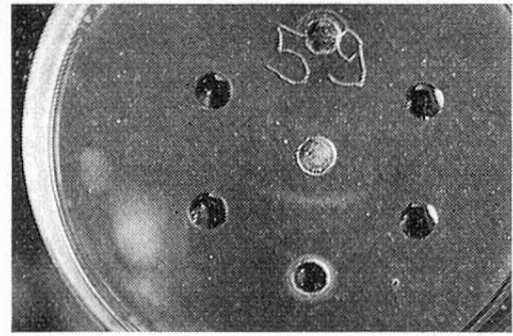


Abb. 7. Serologischer Nachweis von Mais in Bier

Haptene der Probenlösung gegeneinander diffundieren. Im Bereich der optimalen Konzentration beider Reaktionspartner bilden sich die Präcipitine, die im transparenten Gel bei ausreichender Menge als Linien leicht zu erkennen sind. Ist das Antiserum hämolytisch, so empfiehlt es sich, das Gel nach der 2- bis 4tägigen Diffusion durch Einlegen in natriumazidhaltiges destilliertes Wasser zu behandeln. Zur Dokumentation kann man die Platten entweder direkt oder nach Anfärben der Präcipitationslinien mit Coomassie-Blau fotografieren. In Abbildung 6 ist als Beispiel die Gelplatte für die Titerbestimmung des Reisantiserums festgehalten. Es ist zu sehen, wie die Präcipitationslinien der benachbarten, nach einer geometrischen Reihe verdünnten definierten Antigenproben ineinander übergehen.

In Abbildung 7 wird der Nachweis von Mais in verschiedenen Bieren veranschaulicht. Die scharfe Bande unter dem Zentralloch zeigt, daß für die Herstellung des entsprechenden Bieres eindeutig Mais mitverwendet worden ist, und zwar in einem Schüttungsanteil von mehr als 20%. Der Vergleich mit Untersuchungsbefunden von Bieren, die wir in unserem Pilot Plant mit einer Ersatzrate von 1%, 5% und 30% Mais- oder Reisgrieß gebraut hatten, läßt eine grobe Mengenangabe zu. Dies genügt meist, da in der Praxis eine Malzsurrogation von weniger als etwa 10% normalerweise nicht sinnvoll ist. Unter den serologisch geprüften Proben fanden sich 17 ausländische Biere, die mit Bestimmtheit Rohfrucht, meist Mais, enthielten.

Schlußfolgerungen

Wie die vorliegenden Untersuchungen ergaben, läßt sich eine Rohfruchtmitverwendung bei der Bierherstellung anhand klassischer Analysenmerkmale allein nicht zuverlässig nachweisen. Nur serologische Verfahren können den sicheren Beweis für eine Malzsurrogation liefern. Die Grenzen des immunologischen Tests liegen aber dort, wo man statt Mais- oder Reisgrieß Raffinationsprodukte dieser Cerealien, z. B. Stärke- oder Glucose-Sirup, oder gar Zucker zur Bierproduktion einsetzte, weil dann die für die Bildung der Präcipitine erforderlichen Antigene und Haptene fehlen. Die klassischen Analysen und die serologische Methode vermögen sich aber in vielen Fällen gegenseitig zu ergänzen.

Dank

Herrn Dr. A. Flam vom Chemischen Laboratorium der Stadt Zürich danken wir für die fotografische Aufnahme der Agargeldiffusionsplatten bestens.

Zusammenfassung

Zum Nachweis der Mitverwendung von Rohfrucht wie Mais oder Reis für die Bierherstellung wurden 59 verschiedene, meist ausländische Biere einerseits mittels klassischer Methoden auf ihre Gehalte an Gesamtstickstoff, Phosphat, Prolin sowie Calcium und andererseits mit Hilfe immunologischer Tests untersucht. Wie die Resultate zeigen, geben vor allem die Gesamtstickstoff- und Phosphatwerte, zum Teil auch die Prolingehalte wertvolle Indikationen zur Unterscheidung von Vollmalz- und Rohfruchtbieren. Einen sicheren Beweis für eine Malzsurrogation liefert jedoch nur das serologische Verfahren. Sein Prinzip und die einzelnen Arbeitsschritte werden eingehend beschrieben. Oft können sich die Immunologie und die klassische Analytik gut ergänzen, speziell in den Fällen, wo man zur Bierbereitung Raffinationsprodukte von Cerealien, z. B. Stärke- oder Glucose-Sirup, oder gar Zucker einsetzte, was serologisch nicht nachzuweisen ist.

Résumé

Pour l'épreuve du conbrassage des grains crus tels que le maïs ou le riz dans la fabrication de la bière, nous avons analysé 59 différentes sortes de bière, la plupart venant de l'étranger. D'une part, nous avons utilisé les méthodes classiques pour connaître les teneurs en azote total, phosphate, proline, et en calcium. D'autre part, nous nous sommes servis des tests immunologiques. Les résultats montrent que les teneurs en azote total et en phosphate principalement, ainsi que celle en proline donnent de précieuses indications pour distinguer la bière faite de plein-malt de celle qui contient des grains crus. Mais l'épreuve la plus sûre est le procédé sérologique. Son principe et les différentes manipulations sont décrits. Souvent l'immunologie et l'analyse classique se complètent parfaitement, spécialement dans les cas, où l'on se sert de produits raffinés tirés des céréales, tels que l'amidon, le sirop de glucose ou même le sucre, où la distinction n'est pas possible par la sérologie.

Literatur

1. Schild, E. und Schmitt, T.: Zur Frage der Mitverwendung von Rohfrucht bei der Bierbereitung — Ueber den analytischen Nachweis im fertigen Bier. Brauwiss. **15**, 27—33 und 61—70 (1962).
2. Pawlowski, F. und Schild, E.: Die brautechnischen Untersuchungsmethoden. 8. Aufl. S. 290. Verlag Hans Carl, Nürnberg 1961.
3. Ullmann, F., Schur, F. und Pfenninger, H.: Untersuchungen über den Einfluß von Gläserspülmitteln auf Bierschaum und Glasdekor. Schweiz. Brau. Rundschau **78**, 248—258 (1967).

4. Wren, J. J. und Wiggall, P. H.: An improved colorimetric method for the determination of proline in the presence of other ninhydrin-positive compounds. *Biochem. J.* **94**, 216—220 (1965).
5. Hadorn, H. und Beetschen, W.: Komplexometrische Bestimmung von Calcium und Magnesium in diätetischen Nahrungsmitteln. *Mitt. Geb. Lebensm.-Unters. Hyg.* **57**, 240—260 (1966).
6. Sachs, L.: *Angewandte Statistik*. 4. Aufl. S. 228—230. Springer Verlag, Berlin 1974.
7. Donhauser, S.: Immunologische Untersuchungen an den salzlöslichen Eiweißkörpern von Gerste, Mais und Reis bei der Herstellung des Bieres. *M Schr. Brauerei* **19**, 181—186 (1966).
8. Schuster, K. und Donhauser, S.: Auftrennung und Spezifizierung der bei den technologischen Vorgängen der Bierbereitung auftretenden salzlöslichen Proteine von Gerste und Rohfrucht durch immunologische und physiko-chemische Methoden. *Brauwiss.* **20**, 135—144 (1967).
9. Donhauser, S.: Nachweisversuche an enzymatisch stabilisierten Bieren mit immunologischen Methoden. *Brauwiss.* **25**, 189—192 (1972).
10. Donhauser, S.: Die Anwendung immunologischer Methoden in der Brauerei-Analytik. *Brauwelt* **116**, 1560—1568 (1976).

Dr. F. Schur
Dr. P. Anderegg
Dr. H. Pfenninger
Versuchsstation Schweiz. Brauereien
Engimattstraße 11
CH-8059 Zürich