

Abschlussbericht zum Vorhaben

Entwicklung von Methoden zur Analyse sekundärer, antinutritiver Pflanzeninhaltsstoffe unter besonderer Berücksichtigung der Lupinenalkaloide- AlkaLyt

Projekt: 2020 LFE 009

Gefördert durch die Thüringer Aufbaubank nach der Förderrichtlinie „Förderung der Zusammenarbeit in der Land-, Forst- und Ernährungswirtschaft in Thüringen“ (LFE).

Verfasser des Berichtes

JenaBios GmbH

Dipl.-Ing. M. Sc. Daniel Zänder
Dipl. Chem. Julia Althammer

Saatzucht Steinach GmbH & Co. KG

Dr. Thomas Eckardt
Regine Dieterich

Ökologische Landwirtschaft Marold

Dr. Ralf Marold

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	1
Abbildungsverzeichnis.....	2
Tabellenverzeichnis.....	4
Abkürzungsverzeichnis.....	5
1 Einleitung	6
2 Vorgehensweise – Material und Methoden.....	10
2.1 Erweiterung der Analysemethode.....	10
2.2 Klassifizierung von Leguminosen anhand Qualitätsmatrix	13
3 Ergebnisse	16
3.1 Methodenerweiterung LC-MS/MS.....	16
3.2 Standardherstellung	24
3.3 Entwicklung einer GC-Methodik.....	26
3.4 Selektion alkaloidarmer Lupinenstämme	29
3.5 Einordnung der Zuchtversuchproben aus den Jahren 2020 – 2023 in die Qualitätsmatrix	31
3.6 Einordnung der Thüringer Ernteproben hinsichtlich Qualität und Ertrag.....	36
4 Fazit	39
5 Öffentlichkeitsarbeit.....	40
6 Anhang.....	41

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: prozentuale Darstellung des Eiweißbedarfs in Deutschland (Feed Protein Balance Sheet für Deutschland, BLE (BZL), Juni 2021).....	6
Abbildung 2: Vergleich von Erntemengen unterschiedlicher Leguminosen in Deutschland (Versorgungsbilanz Hülsenfrüchte, Statistisches Bundesamt, 2020)	7
Abbildung 3: LC-MS/MS-System Sciex QTRAP 6500+	11
Abbildung 4: Qualitätsmatrix.....	15
Abbildung 5: chemische Grunddaten der Analyten Albin und Multiflorin	16
Abbildung 6: chemische Grunddaten der Analyten Cytisin und Anagyrin.....	16
Abbildung 7: Validierungschromatogramme von Lupinin, Cytisin, Albin, Spartein und Angustifolin.....	18
Abbildung 8: Validierungschromatogramme von Anagyrin, Multiflorin, Lupanin, Isolupanin und Hydroxylupanin	19
Abbildung 9: Übersichtsanalytik von Ernteproben aus 2006 - 2020 mit der erweiterten HPLC-Messmethode der JenaBios.....	21
Abbildung 10: Vergleich der Alkaloidwerte zwischen JenaBios und Uni Heidelberg	22
Abbildung 11: Vergleich der Alkaloidwerte zwischen JenaBios und dem JKI (JKI Werte aus 2019)	22
Abbildung 12: Vergleich der Alkaloidwerte zwischen JenaBios und dem JKI (JKI Werte aus 2021)	23
Abbildung 13: chromatografische Trennung der Analyten im getrockneten Rohprodukt zur Standardgewinnung.....	24
Abbildung 14: Alkaloidkonzentrationen in den Einzelfractionen nach Reinigung.....	25
Abbildung 15: Kalibrationsdiagramm für Lupanin auf einem GC-System, erkennbar ist die nicht-Linearität bei höheren Konzentrationen	27
Abbildung 16: Messreport eines 1000ng/ml Multistandards mit Darstellung der Einzelanalyten	28
Abbildung 17: Mittelwert von Alkaloidgehalten in Ma. %TS	32
Abbildung 18: Einfluss der Bodengüte auf den QA-Gehalt	32
Abbildung 19: Durchschnittswert für den täglichen Niederschlag während der Vegetationszeit.....	33
Abbildung 20: Durchschnittswerte für die tägliche Temperatur während der Vegetationszeit.....	33

Abbildung 21: Übersicht über den QA-Gehalt der Samen der untersuchten Genotypen, die in allen vier Versuchsjahren vertreten waren. Die gestrichelte grüne Linie kennzeichnet dabei den Grenzwert der Alkaloidkonzentration von 0,02 % für die Humanernährung. Die gestrichelte rote Linie kennzeichnet den Grenzwert der Alkaloidkonzentration von 0,05 % für die Tierernährung.....	34
Abbildung 22: Alkaloidgehalte und Erträge der Anbaustandorte 2021 in Thüringen, als Summe ausgewiesen der Gesamtalkaloidgehalt, anzustreben waren < 200 mg/kg	37
Abbildung 23: Alkaloidgehalte und Erträge der Anbaustandorte 2022 in Thüringen, als Summe ausgewiesen der Gesamtalkaloidgehalt, anzustreben waren < 200 mg/kg.....	37
Abbildung 24: Alkaloidgehalte und Erträge der Anbaustandorte 2023 in Thüringen, als Summe ausgewiesen der Gesamtalkaloidgehalt, anzustreben waren < 200 mg/kg.....	38

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: ausgewählte Lupinenchargen zur Übersichtsanalytik bereits etablierter Analyten (Saatzucht Steinach).....	12
Tabelle 2: Landessortenversuche, aus welchen Lupinenproben gewonnen werden konnten.....	13
Tabelle 3: Landwirtschaftsbetriebe, aus denen Lupinenproben gewonnen werden konnten.....	13
Tabelle 4: Methodenumfang Alkaloidmethode nach Erweiterung	20
Tabelle 5: Lupinenprobe LWZ Hörsel 2022	24
Tabelle 6: Gegenüberstellung der Ergebnisse aus GC- und HPLC-Messungen an gleichem Proben- und Referenzmaterial.....	28
Tabelle 7: Anzahl untersuchte Proben der Sorten und Zuchtstämme in den Jahren 2020-2023	29

Abkürzungsverzeichnis

LC-MS/MS	Flüssigchromatographiesystem mit gekoppeltem Tandemmassenspektrometer
GC-MS/MS	Gaschromatographiesystem mit gekoppeltem Tandemmassenspektrometer
LWB	Landwirtschaftsbetrieb
JKI GL	Julius Kühn Institut Groß Lüsewitz
BfR	Bundesamt für Risikobewertung

1 Einleitung

Die aktuelle Situation in Thüringer Landwirtschaftsbetrieben erfordert eine angepasste Strategie für die zukünftige Ausrichtung der Betriebe. Die dauerhaft niedrigen Erzeugerpreise bei tierischen Erzeugnissen und die starken Preisschwankungen bei Marktfrüchten sowie das sich verändernde Verhalten der Verbraucher (Ernährungsgewohnheiten – Zunahme des Anteils Flexitarier und Vegetarier an der Gesamtbevölkerung) führt bei vielen Landwirten zur Suche nach neuen Produktionsrichtungen („Nischenproduktionen“). Einheimische Hülsenfrüchte (Leguminosen) wie Erbsen, Bohnen, Lupinen und Linsen können hier zukünftig eine wichtige Ergänzung zur Schließung regionaler Kreisläufe sein.

Neben dem steigenden Konsum an Bioprodukten und der stärkeren Direktvermarktung zur Versorgung regionaler Märkte ist es notwendig, sich auch vom Import pflanzlichen Eiweißes (Soja) unabhängig zu machen. Diese Zielstellung existiert unabhängig davon, ob das pflanzliche Eiweiß direkt in die menschliche Ernährung fließt oder als Futter eingesetzt wird. Die derzeit in Deutschland angebauten Eiweißlieferanten decken dabei den Bedarf nur zu einem Teil.

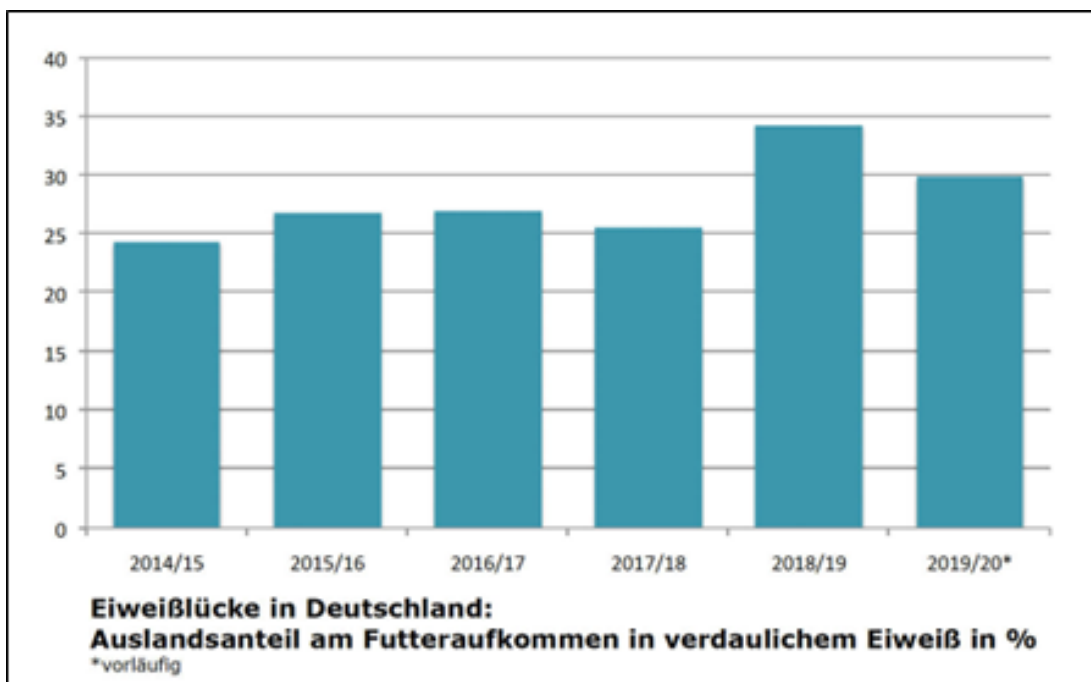


Abbildung 1: prozentuale Darstellung des Eiweißbedarfs in Deutschland (Feed Protein Balance Sheet für Deutschland, BLE (BZL), Juni 2021)

Für den stetig wachsenden Markt an vegetarischen Produkten bieten einheimische Leguminosen ein Absatzpotenzial, sofern die nachgefragten Qualitäten geliefert werden können. Dabei wird für Fleischersatzprodukte zum größten Teil noch immer auf Soja als Basisprodukt gesetzt. Die in Deutschland angebauten Sojamengen hingegen decken auch hier den Bedarf nicht. Anbaubedingungen, rechtliche Regelungen und nicht zuletzt auskömmliche Ertragssituationen führen hauptsächlich zum eingeschränkten Anbau einheimischer Leguminosen.

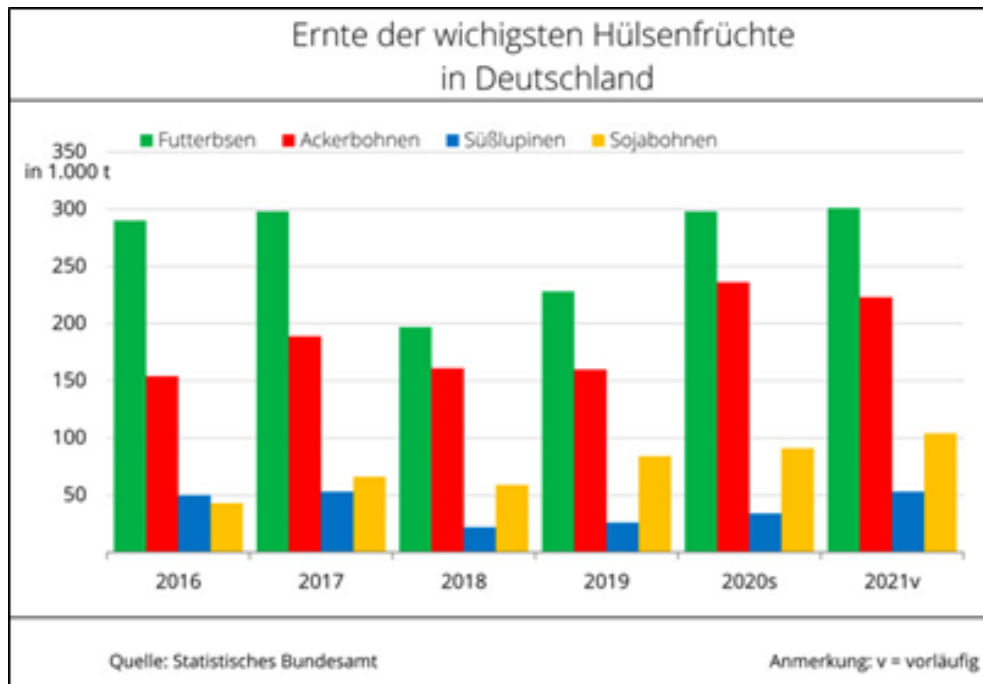


Abbildung 2: Vergleich von Erntemengen unterschiedlicher Leguminosen in Deutschland (Versorgungsbilanz Hülsenfrüchte, Statistisches Bundesamt, 2020)

Ein Einsatz in der Lebensmittelindustrie ist möglich, sofern die Erträge im Vergleich zu den Anbaukosten stimmen. Zudem müssen hierbei auch hohe Qualitätsansprüche als in der Futtermittelindustrie erfüllt werden.

Besonderes Augenmerk liegt hierbei neben den Hauptnährstoffen (Protein, Kohlenhydrate, Ballaststoffe) auf einer Gruppe der sekundären Pflanzeninhaltsstoffe, den sogenannten Antinutritiva. Diese zum Teil toxischen Bitterstoffe stehen einem uneingeschränkten Einsatz in der Lebensmittelindustrie entgegen und müssen zukünftig als Qualitätsmerkmal eingestuft werden. Dafür ist eine routinemäßige Analytik als Qualitätskontrolle notwendig.

Ziel des Kooperationsvorhabens

Die Kooperation aus Landwirtschaftsbetrieb, Laborunternehmen und Züchter setzt sich zum Ziel, diese Qualitäten hinsichtlich spezieller sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe (Alkaloide) zu untersuchen und analytische Methoden hierfür zu entwickeln. Die zum Teil bereits entwickelten Analysemethoden müssen durch neue Parameter ergänzt sowie validiert werden. Des Weiteren gilt es, neue Analysemethoden mit anderen Messverfahren zu entwickeln. Für die Gewinnung von Standardsubstanzen werden größere Mengen an Leguminosensaatgut auf deren Gehalt an Alkaloiden hin untersucht und entsprechende Chargen mit besonders hohen Gehalten für eine weitere Prozessierung ausgewählt. In Thüringen angebaute Chargen an Leguminosen sollen untersucht und entsprechend den geplanten Verwertungswegen eingestuft und klassifiziert werden. Schlussendlich soll eine Prüfung von Thüringer Leguminosenerzeugnisse zeigen, welche Qualitäten erreicht werden können und wie die Gehalte an Bitterstoffen in Bezug auf die Empfehlung von Verbänden einzuordnen sind.

Dabei möchte die Gruppe noch während der Projektlaufzeit stabile Messmethoden für die wichtigsten Alkaloide etablieren sowie ein Klassifizierungssystem für Leguminosen entwickeln. Folgendes wird dafür als notwendig erachtet:

a) Entwicklung von Methoden zur Bestimmung ausgewählter Alkaloide in Leguminosen

- Erarbeitung einer neuen Extraktionsroutine hinsichtlich der Analyten Albin, Multiflorin und Tetrahydrorhombifolin
- Erweiterung einer bestehenden Basis- Messmethode mittels Flüssigchromatografie (HPLC-MS/MS) hinsichtlich der oben genannten Verbindungen
- Neuentwicklung einer analytischen Methode für die Bestimmung des Alkaloid-Gehaltes in Lupinen-Samen und -Pflanzen sowie mittels Gaschromatographiesystem (GC-MS/MS).
- Validierung der GC-Methode durch die HPLC-Methode
- Beschaffung oder Herstellung von Laborvergleichsstandards für weitere Parameter der Analysemethoden
- Prüfung, ob diese aus Saatgut hergestellt oder synthetisiert werden können

b) Klassifizierung Thüringer Leguminosen

- Selektion alkaloidfreier, für die Humanernährung geeigneter Lupinenstämme
- Analyse der Wechselwirkung Sorte-Standort-Restalkaloidgehalt
- Ableitung von regionalen Anbauempfehlungen
- Erstellung eines Klassifizierungsrahmens für den Einsatz als Lebensmittelrohstoff
- Detektion hoch alkaloidreicher Lupinenherkünfte und -sorten

Die Einordnung einheimischer Leguminosen hinsichtlich bestehender Qualitätsanforderungen einzelner Fachbehörden (EFSA, BLE) bezüglich antinutritiver Inhaltsstoffe soll das Potenzial Thüringer Landwirte zeigen, zukünftig Leguminosen in die Lebensmittelindustrie zu liefern.

Operationelle Gruppen

Das Projekt ist ein Kooperationsvorhaben zwischen praktizierender Landwirtschaft, einem umweltanalytischen Laborunternehmen sowie einem Saatgutzüchter.

Zu den operationellen Gruppen gehören:

JenaBios GmbH
Löbstedter Straße 80, 07749 Jena
(Projekt-Koordinator)
www.jenabios.de

Saatzucht Steinach GmbH & Co. KG
Wittelsbacher Str. 15
94377 Steinach

Ökologische Landwirtschaft Marold Mittelsömmern
Hauptstraße 7
99955 Mittelsömmern

2 Vorgehensweise – Material und Methoden

2.1 Erweiterung der Analysemethode

Die bestehende Analysemethode mittels HPLC-MS/MS soll um weitere Analyten ergänzt werden. Neben den Hauptalkaloiden in Lupinensaatgut sind weitere, für die Toxizität maßgebliche, Inhaltsstoffe zu analysieren. Die Vorgaben der Fachbehörden sind hierbei nicht abschließend, sodass das zu untersuchende Analysespektrum nicht klar benannt wird. Die Parametererweiterung erfolgt neben der fachlichen Perspektive auch auf Grundlage der aktuellen Marktanforderungen.

Die folgenden Analyten sollen nach Abschluss des Vorhabens in der Routineanalytik zur Verfügung stehen:

- Lupanin
- 13-Hydroxylupanin
- Spartein
- Lupinin
- Angustifolin
- Multiflorin
- Albin
- Tetrahydrorhombifolin

Hierbei müssen die Parameter Albin, Multiflorin sowie Tetrahydrorhombifolin komplett neu eingearbeitet werden.

Für die Einarbeitung neuer Analyten müssen folgende Arbeitsschritte angepasst werden:

- Probenvorbereitung
 - Verbesserung des Mahlgrades
 - Erhöhte Nachreinigung zur Vermeidung von Querkontaminationen
- Extraktion
 - Verlängerte Aufschlusszeiten
 - Anpassung der Lösemittelgemische
 - Erweiterung der fraktionierten Reinigung der Eluate
 - Aufstockung mit relevanten Messstandards
- Messung
 - Anpassung des Messprogramms

Dazu werden durch die Abteilung Organik des Analyselabors verschiedene Eluenten, Mischungsverhältnisse, Chromatografiesäulen, Temperaturverläufe und Datenbankabgleichen gegenübergestellt und verglichen.

Als Grundlage dienen die Methoden:

- „Makkar et al, Methods in Molecular Biology, Plant Secondary Metabolites, Humana Press Inc. ISBN-10:1-58829-993-7; p 107-111; Lösemittelextraktion + HPLC-MS/MS
- J. Agric. Food Chem, 36, 754-759

Nach Zerkleinern und Trocknen der Saatgutproben werden diese mittels Extraktionsmittelgemisch (Essigsäure, Wasser, Methanol) extrahiert, anschließend zentrifugiert, verdünnt und der Messung zugeführt.

Für die Methodenerweiterung nutzt das Versuchslabor zwei LC-MS/MS Systeme vom Typ Sciex QTRAP 6500+ und Sciex Triple Quad 5500.



Abbildung 3. LC-MS/MS-System Sciex QTRAP 6500+

Eine Übersichtsanalytik mit den bereits etablierten Analyten an Saatgutproben des Saatzüchters wurde durchgeführt. Daraus resultierend sollten Chargen gewonnen werden, die alkaloidreich sind, und sich unter Umständen zur Gewinnung von Standardsubstanzen eignen. Die folgende Tabelle stellt die ausgewählten Saatgutproben dar.

Tabelle 1: ausgewählte Lupinenchargen zur Übersichtsanalytik bereits etablierter Analyten (Saatzucht Steinach)

Nr	Stamm	Feld-Nr/ Herkunft	Ernte Jahr	Nr	Stamm	Feld-Nr/ Herkunft	Ernte Jahr
1	Bo 172458	20EX1029	-	20	Borlu	Priborn	2007
2	Bo 163260	20EX1035	-	21	Bo 083521 AR	NSO	2008
3	Bo 172410	20EX1026	-	22	Bo 083517 AR	NSO	2008
4	Bo 172411	20EX1207	-	23	Boregine	NSO	2009
5	Bo 163317	20EX1216	-	24	Bo 083521 AR	NSO	2009
6	Bo 172440	20EX1206	-	25	Gelbe Lupine	Palencia	2009
7	Bo 172460	20EX1211	-	26	Probor	Zamora	2009
8	Boregine	20EX1022	-	27	Australia	Zamora	2009
9	Vitabor	M und D	-	28	Boruta	NSO	2019
10	Borlu	Loppin	2006	29	Bo 0833902/17	NSO	2019
11	Borlu	Priborn	2006	30	Bo 172390	NSO	2019
12	Borlu	Kogel	2006	31	Bo 083390/3	NSO	2019
13	Boruta	Woldegk	2006	32	Bo 083390/4	NSO	2019
14	Boruta	Cammin	2006	33	Bo 083390/5	NSO	2019
15	Boruta	Lindetal	2006	34	Boregine	NSO	2019
16	Probor	Ankershagen	2006	35	Bo 163213	NSO	2019
17	Probor	Möllenhagen	2006	36	Bo 172410	NSO	2019
18	Boregine	Loppin	2007	37	Bo 172436	NSO	2019
19	Probor	Loppin	2007				

Anhand der Ergebnisse der Übersichtsanalytik mittels LC-MS/MS sollten Chargen mit hohen Alkaloidgehalten ausgewählt werden um anschließend mit Hilfe eines LC-OrbiTrap Analyse-systems hinsichtlich unbekannter Strukturen untersucht werden.

Nach Erweiterung der LC-MS/MS-Methode sollte eine gleichartige Routinemethode auf einem gaschromatografischen System etabliert werden.

Dafür mussten ebenfalls Versuche zur Probenvorbereitung mittels Heißextraktion, Reinigung sowie Chromatografiesäulen, Temperaturverläufe und Datenbankabgleichen durchgeführt werden.

Hierfür wurde ein GC-MS/MS System des Typs Agilent 7890B mit Agilent 7000A TripleQuad GC/MS genutzt.

Zur grundsätzlichen Verbesserung der Genauigkeit und Wiederholbarkeit der entwickelten analytischen Methoden wurden Vergleichsuntersuchungen mit anderen Laboren angestellt. Koordiniert wurden diese durch den Partner Saatzucht Steinach.

2.2 Klassifizierung von Leguminosen anhand Qualitätsmatrix

Über den Versuchszeitraum wurden regelmäßig von allen verfügbaren Thüringer Versuchsstationen sowie ausgewählter Sortenversuche aus Sachsen-Anhalt Lupinenproben entnommen. Auf Grund unterschiedlicher Versuchsplanungen standen nicht jedes Jahr von allen Standorten Lupinenproben zur Verfügung. Aus den Landessortenversuchen konnten folgende Probe gewonnen werden:

Tabelle 2: Landessortenversuche, aus welchen Lupinenproben gewonnen werden konnten

Versuchsstation	2021	2022	2023
LSV Dornburg	x	x	x
LSV Kirchengeln		x	x
Großenstein	x		x
Beetzendorf	x		
Gadegast	x		
Walbeck	x		
Buttelstedt		x	

Zudem wurden weitere Lupinenproben aus den Realversuchen des Saatzüchters untersucht, damit eine Basis für eine valide Datenauswertung zur Verfügung stand.

Aus Thüringer Landwirtschaftsbetrieben wurden ebenfalls Saatproben aus Lupinenernten gewonnen. Die Gewinnung gestaltete sich jedoch schwierig, da der Anbau von Lupinen nicht zur standardmäßigen Fruchtfolge gehörte. Nachdem die Lupinenerträge im Jahr 2022 eher gering ausfielen, konnten viele Betriebe im Jahr 2023 nicht von einem Anbau überzeugt werden.

Aus folgenden Betrieben konnten Proben gewonnen werden:

Tabelle 3: Landwirtschaftsbetriebe, aus denen Lupinenproben gewonnen werden konnten

LWB	2021	2022	2023
LWZ Hörseltal, Mechterstädt	x	x	
AP Ranis, Ludwigshof		x	
Mittelsömmern	x		x
Großvargula	x	x	
LWB Tanna		x	
Gönnatal Agrar GmbH		x	
Agrargenossenschaft Moorggrund eG		x	
LWB Stark			x
AGN Neunheilingen	x	x	

Durch den Partner Saatzucht Steinach wurde eine Qualitätsmatrix zur Einordnung verschiedener Lupinenchargen erarbeitet.

Als Grundlage für die Auswertung und Einordnung der Lupinen wurde in den Versuchsjahren eine umfassende Datentabelle erarbeitet. Erfasst wurden Werte des Bodens (Ackerzahl, Bodenart, ...), Bodenuntersuchungsergebnisse (pH-Wert, P, Ca, Mg, ...), Düngung, Wetterdaten (Temperatur, Niederschlag, Sonnenstrahlung, ...), Aussaattermin, Erntetermin, Alkaloidgehalte, Rohproteingehalte, Erträge und sonstige Beobachtungen.

Grundlage hierfür waren die Qualitätsanforderungen der Lebensmittelindustrie in Kombination mit Vorgaben der Fachbehörden.

Qualitätsansprüche

- Alkaloidwerte unter 0,02%
- Samenfarbe möglichst hell
- Samenschalenanteil möglichst gering
- geringes Tausendkorngewicht (TKG)
- Mindestens 97% Reinheit
- Hoher Proteingehalt
- Frei von Krankheiten und Schädlingen

Von den aufgelisteten Merkmalen wurden der

- Alkaloidgehalt
- das TKG
- der Proteingehalt
- die Samenfarbe

besonders berücksichtigt.

Ein Ampelsystem macht auf einen Blick sichtbar, welcher der Genotypen für welchen Zweck geeignet sind. Hier wird eine Einordnung für die Human- und Tierernährung vorgenommen. Die QA-Gehalte, die über den Grenzwert der Tierernährung liegen, werden als Überschreitung dargestellt. Zusätzlich gibt die Matrix Auskunft über den Mittelwert des Alkaloidgehaltes jedes Genotyps. Weiterhin werden die QA- Gehalte prozentual in den beschriebenen Gruppen (Humanernährung, Tierernährung, Überschreitung) abgebildet. Die Anzahl der untersuchten Proben je Genotyp war sehr variabel (1-23) und wird in der letzten Spalte der Matrix ersichtlich.

Der Proteingehalt sowie das TKG wird über die bedingte Formatierung farbig unterlegt und ist damit für den Betrachter schnell zu deuten.

Die Samenfarben werden nach UPOV-Kriterien eingeordnet. Dazu zählt die Ornamentierung, Grundfarbe, Verteilung und Dichte. Zusätzlich wird der interne Farbcode der Saatzucht Steinach angezeigt.

Die Qualitätsmatrix steht halb automatisiert zur Verfügung und ist mit Formeln und einer Bearbeitungsanleitung hinterlegt. Ein Ausdruck der Qualitätsmatrix ist in Abbildung 4 zu sehen.

Stamm	Netto- Ertrag (dt/ha)	TKG in g	Rohtprotein gehalt NIR [%]	Alkaloidgehalt alt MA%TS	Geeignet für Humanem ährung (≤0,02% MA TS)	Geeignet nur für Tierernährung ng (>0,2 bis≤0,05 %)	Überschreitung (>0,05%)	Geeignet für Humanem ährung in Prozent	Geeignet nur für Tierernährung in Prozent	Überschreitung in Prozent	Ornamentier ungsfarbe	Grundfarbe	Verteilung	Dichte	Farbcode Saatzucht	Bewertung Farbe	Anzahl der Proben
1	28,5	144	26,8	0,009	1	0	0	100%	0%	0%	braun	beige	gesamt	dicht	gdr, w spr		1
2	29,7	138	26,5	0,015	1	0	0	100%	0%	0%	braun	beige	gesamt	dicht	gdr, w spr		1
3	30,3	141	27,2	0,016	1	0	0	100%	0%	0%	braun	beige	gesamt	dicht	gdr, w spr		1
4	13,0	122	25,6	0,025	1	1	0	50%	50%	0%	fehlend	weiß	gesamt	fehlend	w		2
5	15,5	134	27,2	0,023	2	2	0	50%	50%	0%	braun	hellgrau	gesamt	mittel	hgr, s spr		4
6	10,8	129	28,2	0,027	2	3	0	40%	60%	0%	braun	beige	dorsal	locker	b, br m		5
7	17,3	145	27,6	0,011	9	1	0	90%	10%	0%	braun	beige	gesamt	mittel	gdr, br spr		10
8	23,3	140	27,3	0,008	12	1	0	92%	8%	0%	braun	beige	gesamt	dicht	gdr, w spr		13
9	17,3	149	27,2	0,016	10	4	0	71%	29%	0%	braun	beige	gesamt	mittel	gr, br spr		14
10	21,3	147	28,8	0,015	10	4	0	71%	29%	0%	braun	beige	gesamt	mittel	gr, br spr		14
11	15,5	133	28,7	0,010	14	0	0	100%	0%	0%	braun	beige	gesamt	mittel	gr, br spr		14
12	16,9	137	28,4	0,020	7	2	1	70%	20%	10%	braun	beige	gesamt	mittel	gr, br spr		10
13	29,8	174	30,3	0,041	1	3	1	20%	60%	20%	hellbraun	weiß	gesamt	locker	b, lbr spr		5
14	19,0	144	30,9	0,049	0	7	2	0%	78%	22%	hellbraun	weiß	gesamt	locker	b, lbr spr		9
15	19,2	128	27,8	0,034	5	9	4	28%	50%	22%	fehlend	weiß-beige	fehlend	fehlend	wb, brz		18
16	22,0	162	29,3	0,036	0	3	1	0%	75%	25%	grau-braun	weiß	gesamt	dicht	gdr, w spr		4
17	13,8	123	29,1	0,046	0	3	1	0%	75%	25%	brown-weiß	grau	gesamt	dicht	gdr, w spr		4
18	17,4	127	29,8	0,040	4	12	6	18%	55%	27%	braun	weiß	dorsal	locker	w, sgm		22
19	20,1	165	29,0	0,084	0	3	2	0%	60%	40%	fehlend	beige	fehlend	locker	wb		5
20	17,6	141	30,5	0,059	1	7	6	7%	50%	43%	braun	weiß	gesamt	locker	b, br m		14
21	14,8	123	26,4	0,076	0	1	1	0%	50%	50%	fehlend	weiß	fehlend	fehlend	w		2
22	12,9	122	26,8	0,044	1	0	1	50%	0%	50%	fehlend	weiß-beige	fehlend	fehlend	wb		2
23	18,3	149	27,4	0,070	2	8	13	9%	35%	57%	fehlend	beige	fehlend	fehlend	wb		23
24	22,0	137	26,4	0,067	0	6	12	0%	33%	67%	fehlend	weiß	fehlend	fehlend	w		18
25	17,7	134	27,9	0,085	1	3	10	7%	21%	71%	braun	beige	gesamt	mittel	hgr, s spr		14
26	22,5	140	27,1	0,072	1	4	13	6%	22%	72%	fehlend	beige	fehlend	fehlend	wb		18
27	16,3	142	27,3	0,078	1	1	15	6%	6%	88%	grau	beige	gesamt	dicht	sg, sw spr		17
28	9,7	118	27,8	0,069	0	0	1	0%	0%	100%							1
29	8,8	117	27,1	0,162	0	0	1	0%	0%	100%							1
30	13,7	135	27,7	0,065	0	0	2	0%	0%	100%	fehlend	weiß-beige	fehlend	fehlend	wb		2
31	16,8	143	30,6	0,063	0	0	2	0%	0%	100%	hellbraun	beige	gesamt	mittel	b, br spr		2
32	23,8	160	28,1	0,122	0	0	4	0%	0%	100%	fehlend	weiß	fehlend	fehlend	w		4

Abbildung 4: Qualitätsmatrix

3 Ergebnisse

3.1 Methodenerweiterung LC-MS/MS

Für die Methodenerweiterung wurden zunächst verfügbare Standardmaterialien gesucht. Folgende Präparate konnten im Handel erworben werden:

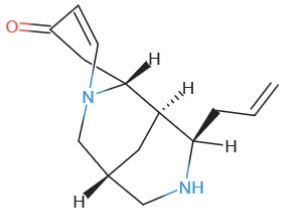
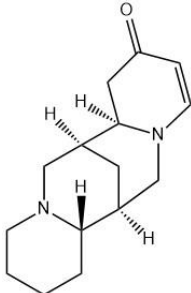
	Albin	Multiflorin
Summenformel	$C_{14}H_{20}N_2O$	$C_{15}H_{22}N_2O$
Strukturformel		
CAS-Nr.:	53915-26-7	529-80-6
Vertrieb:	LGC Standards GmbH	LGC Standards GmbH

Abbildung 5: chemische Grunddaten der Analyten Albin und Multiflorin

Für Tetrahydrorhombifolin konnte auch nach intensiver Recherche keine geeignete Standardsubstanz zum Erwerb gefunden werden. Allerdings wurden Alkaloide ähnlicher Toxizität ermittelt, die stattdessen in die Methode eingearbeitet werden konnten und zu denen Standardsubstanzen bereits erhältlich waren. Hierbei handelt es sich um

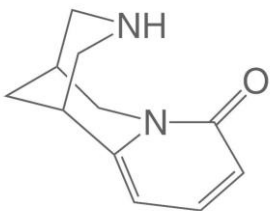
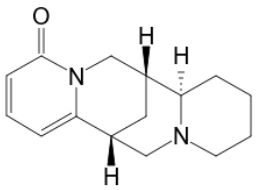
	Cytisin	Anagyrin
Summenformel	$C_{11}H_{14}N_2O$	$C_{15}H_{20}N_2O$
Strukturformel		
CAS-Nr.:	485-35-8	74195-83-8
Vertrieb:	LGC Standards GmbH	Merck

Abbildung 6: chemische Grunddaten der Analyten Cytisin und Anagyrin

Die vier Analyten wurden in die HPLC-MS/MS-Methode eingearbeitet. Dazu mussten verschiedene Schritte der Probenvorbereitung angepasst werden. Im Folgenden werden die Einzelschritte genau erläutert.

Probenvorbereitung:

- Nach Trocknung wird das Material zu einem Pulver vermahlen (<1 mm) und gut durchmischt. Ausgehend von 500g Eingangsprobe vermahlt man ca. 50g. Eine Trocknungstemperatur von 105°C führt nicht zur Zerstörung der obigen Alkaloide. Die Lagerung hat nach guter Lebensmittelpraxis so zu erfolgen, dass ein Verderb unterbunden wird.

Probenaufarbeitung (Doppelbestimmung)

- 1,0 g Probenmaterial werden in einer 250 ml Schottflasche mit 100 ml Extraktionsmittel (Methanol+Wasser+Essigsäure 80+19,5+0,5) und folgenden internen Standards versetzt:
 - 1 mg Theophyllin
 - 1 mg 2-Aminobiphenyl (ABP)
- Es wird 2h auf dem Horizontalschüttler bei Raumtemperatur extrahiert.
- Die Mischung wird zentrifugiert (10 min, 8000 U/min) und es werden in Zehnerschritten folgende Verdünnungen in Methanol/Wasser 1+1 hergestellt; 100µl+900µl:
 - 1:10 (1g in 1000ml)
 - 1:100 (1g in 10 000ml)
 - Ggf. 1:1000 (1g in 100 000ml)
- Ca. 1 ml der beiden Verdünnungen werden in 1,5 ml Kunststoffvials abgefüllt.
- Fertig für HPLC-MS/MS

Standardlösungen zur Kalibration

Analytenmischung	Interne Standards (IS)
100 ng/ml	100 ng/ml
10 ng/ml	100 ng/ml
1 ng/ml	100 ng/ml

Messungen/ Auswertung der Chromatogramme

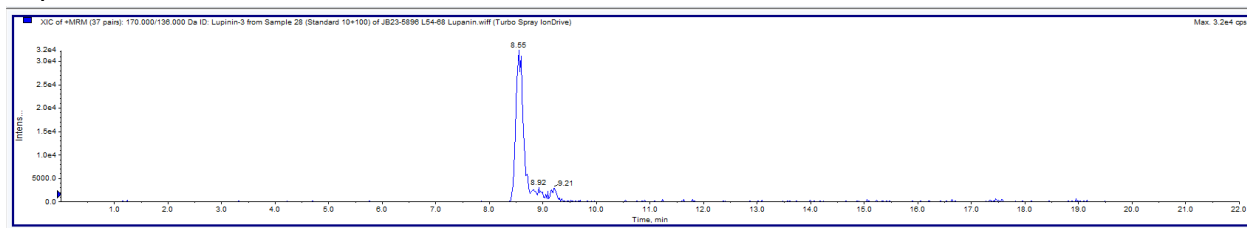
- Bei Lupinensamen (blaue-, weiße-) ist die 1:100 Verdünnungsstufe (1g in 10 000ml) als Doppelbestimmung für die Messung ausreichend, um eine Bewertung hinsichtlich des gegenwärtigen Richtwertes (200mg/kg) vorzunehmen. Matrixunterdrückungen sind hier kaum zu erwarten. Dies erkennt man an den internen Standards.
- Auf Grund der hohen MS-Empfindlichkeit der Alkaloide ist bei der Auswertung zu beachten, dass oberhalb von 50 ng/ml bereits der nichtlineare Bereich beginnt.
- Jede Substanz wird bei mindestens drei MRM-Übergängen ausgewertet. Bei Unterschieden kleiner 20% wird mit dem Mittelwert weitergerechnet. Gestörte MRM-Übergänge werden verworfen. Die internen Standards werden routinemäßig mit eingerechnet. Beim Multiflorin gibt es im Chromatogramm Peaküberlagerungen, so dass hier leicht Überbefunde hineininterpretiert werden können.

Die Referenzproben werden als Vergleich immer mit ausgewertet.

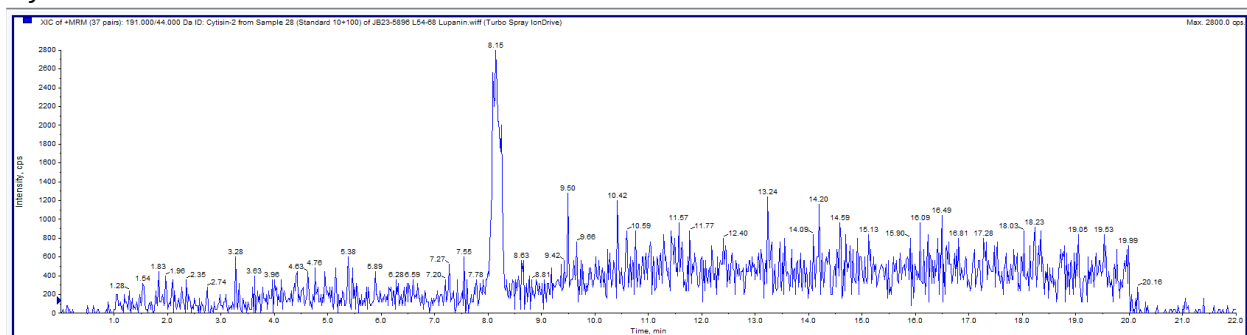
Für die anschließenden Messungen am Gerät wurden spezifische Methodenparameter (Chromatographiesäule, Ofentemperatur, Injektionsvolumen, Eluent) getestet, bis das Ergebnis valide und qualitativ hochwertig war. Die Herausforderung bestand darin, die Messpeaks scharf von anderen Substanzen und Matrixeffekten zu trennen.

Dies ist für alle Analyten gelungen. Im Folgenden sind Chromatogramme mit den Validierungsmessungen der Einzelanalyten dargestellt.

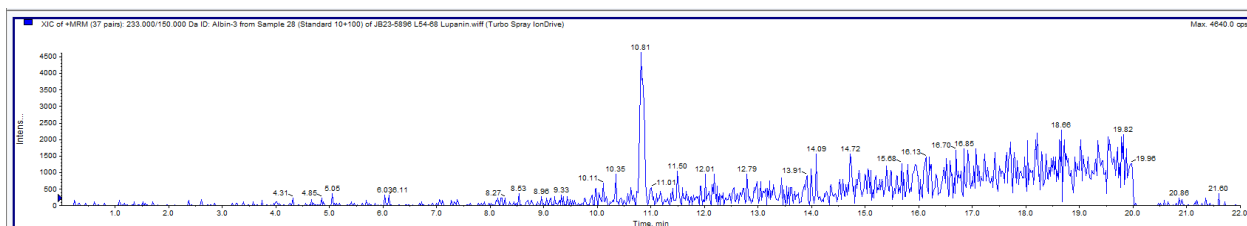
Lupinin



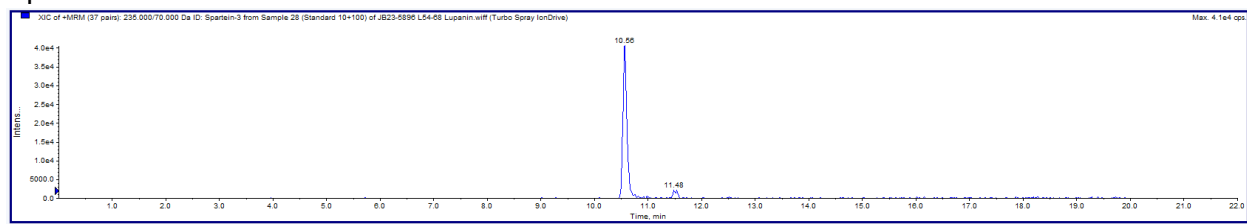
Cytisin



Albin



Sparteine



Angustifolin

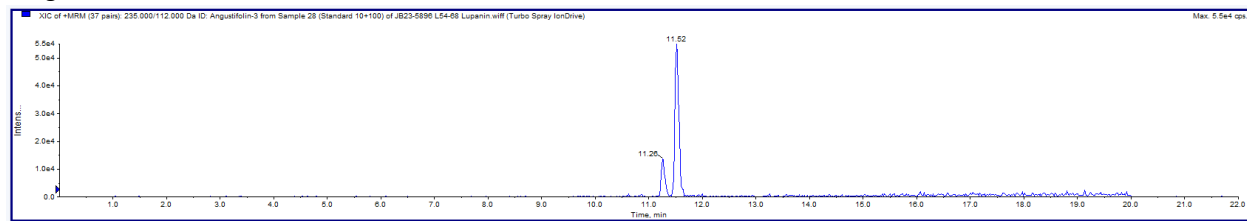
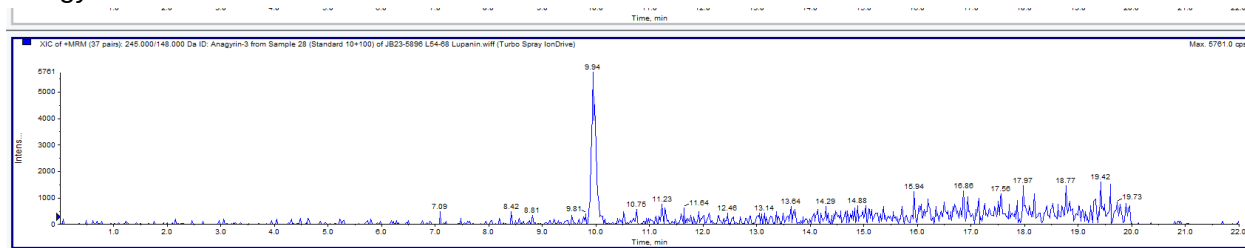
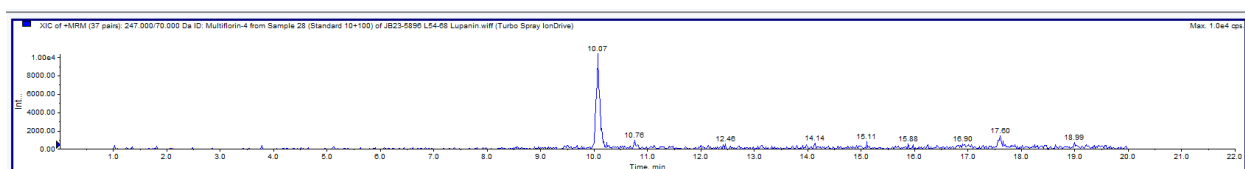


Abbildung 7: Validierungschromatogramme von Lupinin, Cytisin, Albin, Sparteine und Angustifolin

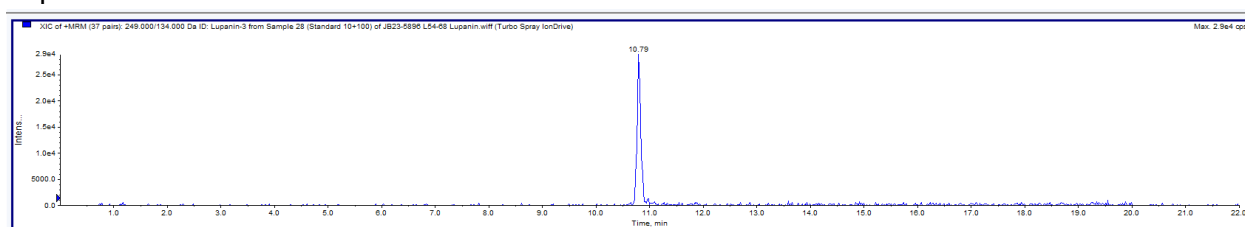
Anagyrin



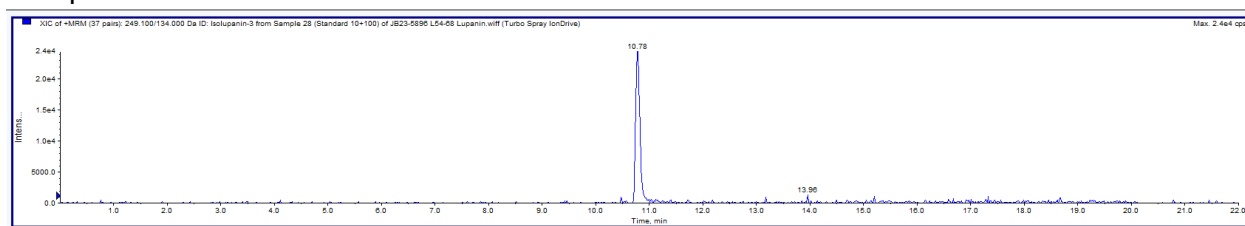
Multiflorin



Lupanin



Isolupanin



Hydroxylupanin

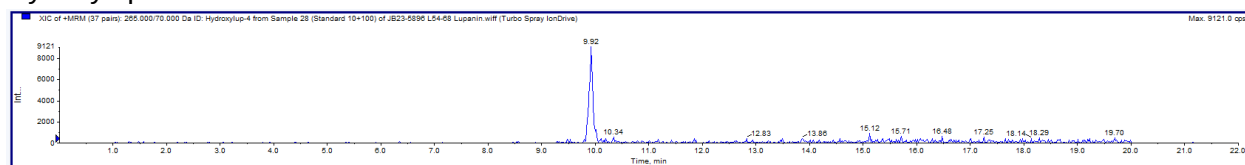


Abbildung 8: Validierungschromatogramme von Anagyrin, Multiflorin, Lupanin, Isolupanin und Hydroxylupanin

Die Messmethode konnte so eingearbeitet werden, dass zukünftig folgende Bestimmungsgrenzen erreicht werden:

Tabelle 4: Methodenumfang Alkaloidmethode nach Erweiterung

Nr	Beschreibung	Bestimmungsgrenze [mg/kg TS]
1	Albin	< 10
2	Anagyrin	< 10
3	Angustifolin	< 10
4	Cytisin	< 10
5	13-Hydroxylupanin	< 10
6	alpha-Isolupanin	< 10
7	Lupanin	< 10
8	Lupinin	< 10
9	Multiflorin	< 10
10	Sparteïn	< 10

Die Methodenerweiterung konnte damit abgeschlossen werden. Für die Validierung der Gesamtmethode wurden durch den Partner Saatzucht Steinach Rückstellmuster von Lupinenchargen aus den Jahren 2006 – 2020 bereitgestellt.

Die Rückstellmuster wurden in den eigentlichen Erntejahren von anderen Untersuchungseinrichtungen analysiert:

- Universität Heidelberg, Arbeitsgruppe Prof. Wink (Analysen 2006 – 2009)
- Julius Kühn Institut Groß Lüsewitz, Phytoanalytik (Analysen 2019 – 2020)

Der Partner JenaBios hat nach Erweiterung der HPLC-Methode die Rückstellmuster ebenfalls untersucht. Es handelten sich hierbei um Sorten und Zuchtstämme der Blauen Lupine aus Deutschland und Spanien aus den Jahren 2006-2019. Die Ergebnisse sind in Abbildung 9 dargestellt.

Es wird deutlich, dass sowohl Samenproben mit besonders niedrigen (bspw. Boruta_Lindetal_2006) als auch mit außergewöhnlich hohen Alkaloidgehalten (Bo 0833902/17_NSO_2019) vorlagen. Für das Gesamtprojekt zeigt sich hier die Varianz zwischen verschiedenen Sorten und Zuchtstämmen.

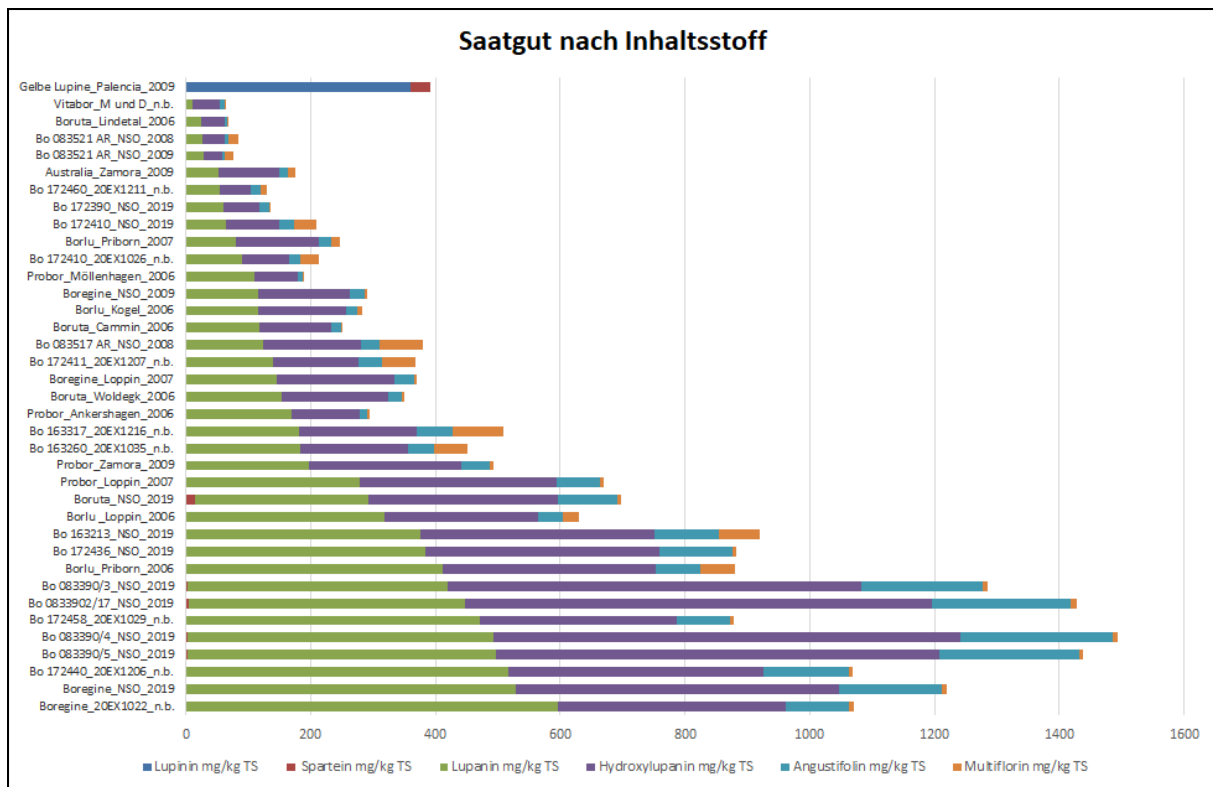


Abbildung 9: Übersichtsanalytik von Ernteproben aus 2006 - 2020 mit der erweiterten HPLC-Messmethode der JenaBios

Die in den Jahren 2006 - 2009 gemessenen Gehalte der Uni Heidelberg lagen im Bereich zwischen 0,001 % und 0,059 %. Die Alkaloidgehalte des JKI Groß Lüsewitz aus den Jahren 2019 und 2020 befanden sich im Bereich zwischen 0,02 % und 0,27 %. Als Standard wurde über alle Jahre die Sorte Boregine mitgeführt.

Die Ergebnisse der Alkaloiduntersuchungen zwischen den Laboren werden auf Abbildung 10 bis Abbildung 12 miteinander verglichen.

Aus Abbildung 10 wird deutlich, dass die gemessenen QA-Gehalte der Uni Heidelberg über alle Prüfglieder unter den Alkaloidwerten der Firma JenaBios liegen. Der Korrelationskoeffizient von 0,93 zeigt einen starken linearen Zusammenhang zwischen den Messwerten der Labore. Die Universität Heidelberg nutzte standardmäßig eine GC-Methode.

Der Vergleich Analyseergebnisse zwischen den Laboren JenaBios und JKI GL aus den Versuchsjahren 2019 wird in Abbildung 11 dargestellt. Das Material wurde so ausgewählt, dass die Alkaloidgehalte einen möglichst breiten Bereich abdecken. Im Labor des JKI lagen für die Alkaloide Isoangustifolin, Angustifolin, Isolupanin und Multiflorin keine Referenzsubstanzen vor, daher wurde zur Quantifizierung dieser Alkaloide der Responsfaktor von Lupanin verwendet. Es wird ersichtlich, dass die Messungen der Alkaloidgehalte der Blauen Lupinen aus dem Labor JenaBios deutlich geringer sind als aus dem Labor JKI. Der Korrelationskoeffizient von 0,992 zeigt eine sehr gute Vergleichbarkeit der Messmethoden.

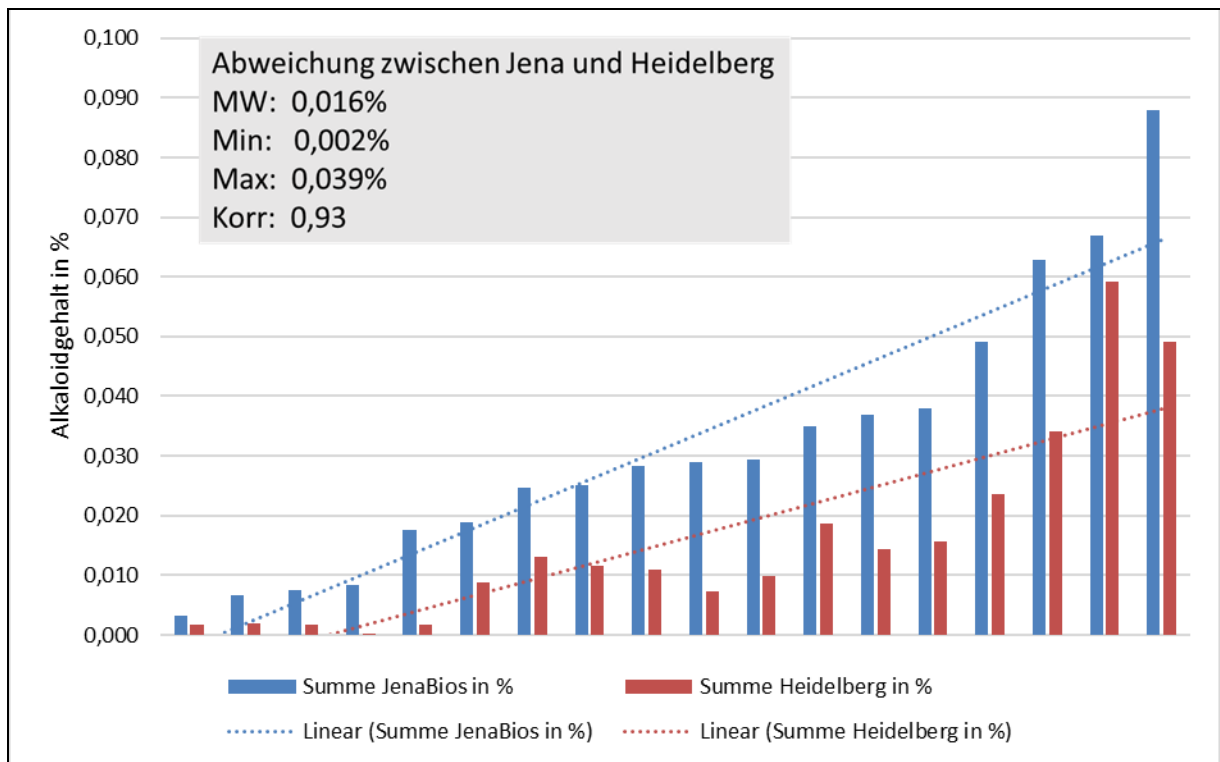


Abbildung 10: Vergleich der Alkaloidwerte zwischen JenaBios und Uni Heidelberg

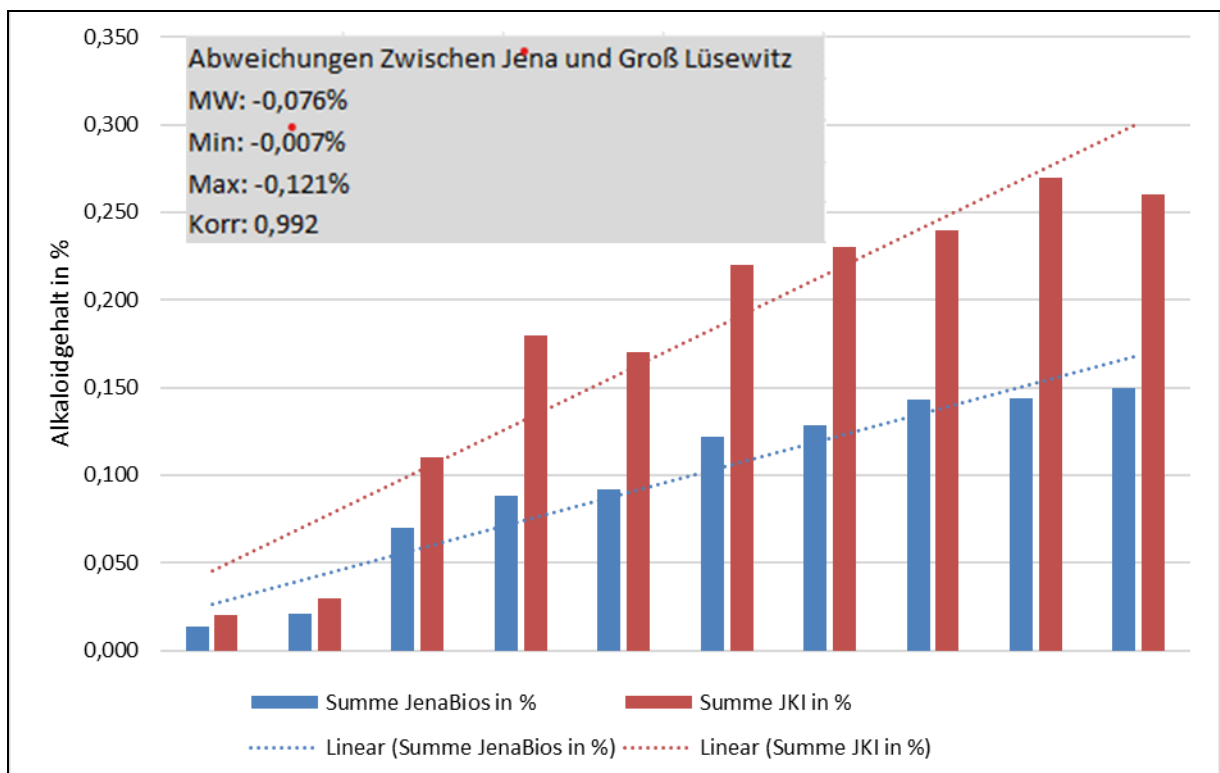


Abbildung 11: Vergleich der Alkaloidwerte zwischen JenaBios und dem JKI (JKI Werte aus 2019)

In Abbildung 12 werden die Alkaloidmessungen des Versuchsjahres 2021 zu Grunde gelegt. Um die Versuchsgenauigkeit zu verbessern wurde beim JKI eine neue Gaschromatografie-Säule genutzt und die Gaschromatografie (GC) optimiert. Die GC wurde sensitiver und die Peaktrennung besser. Die Abweichungen der Messungen zwischen den Laboren wurden verbessert.

Es zeigt sich, dass die HPLC-Methode als Referenzmethode genutzt werden kann, um GC-Methoden zu verbessern. Die offenbar schlechtere Sensitivität am Gaschromatografen wird einer der Intensivarbeitungspunkte im weiteren Verlauf bei der Entwicklung einer eigenen GC-Methode bei JenaBios sein.

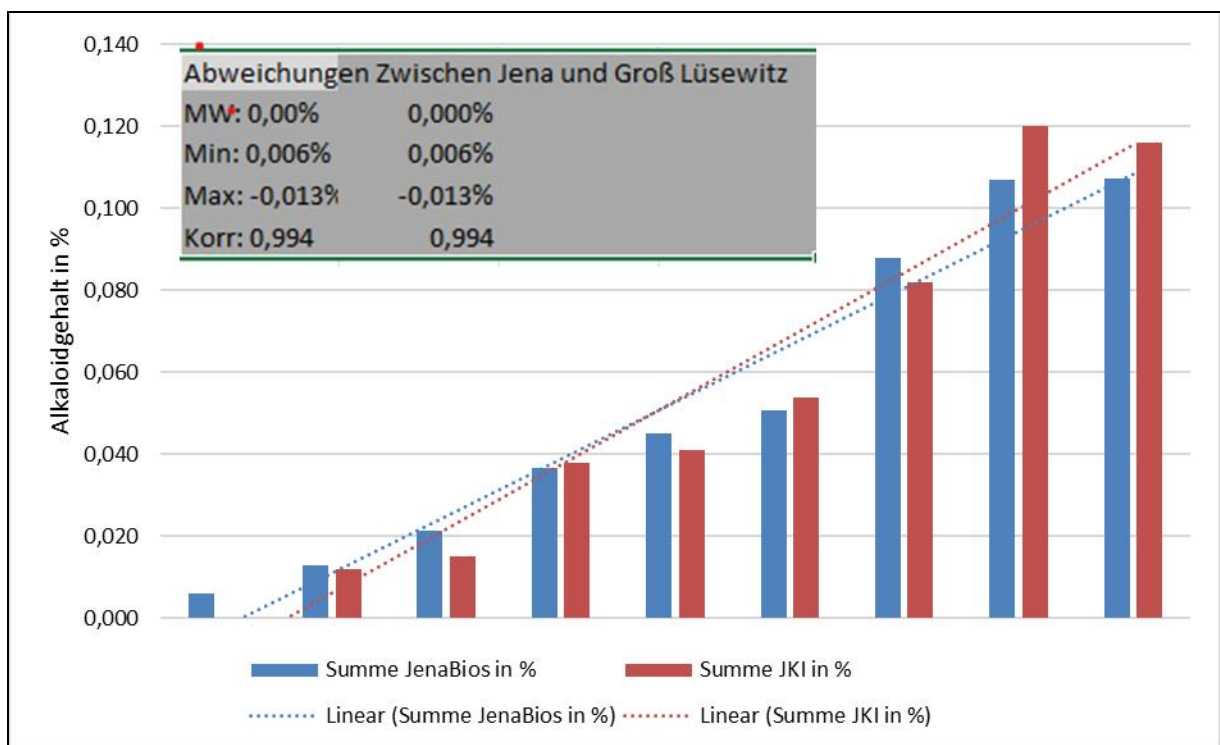


Abbildung 12: Vergleich der Alkaloidwerte zwischen JenaBios und dem JKI (JKI Werte aus 2021)

3.2 Standardherstellung

Im Rahmen der Standardbeschaffung sollte geprüft werden, ob einzelne Analyten direkt aus den Lupinensamen gewonnen werden können. In der Regel wird dieses Vorgehen lediglich angewandt, um Vorstufen von Standardsubstanzen zu gewinnen.

Dazu wurden eine Lupinenprobe, deren Alkaloidanalytik hohe Konzentrationen aufwies, ausgewählt.

Tabelle 5: Lupinenprobe LWZ Hörssel 2022

Analyt	Konzentration [mg/kg TS]
Angustifolin	35
13-Hydroxylupanin	85
Lupanin	178

Die gesamte Probenmenge wurde vermahlen, 24h mit Salzsäure vermengt und anschließend fraktioniert und zentrifugiert. Der erhaltene Überstand wurde filtriert und mit Dichlormethan extrahiert. Das so entstandene Alkaloid – Lösemittelgemisch wurde zur Trockenen eingedunstet und erneut analysiert. Die Zusammensetzung war typisch und entsprach der Anfangsuntersuchung.

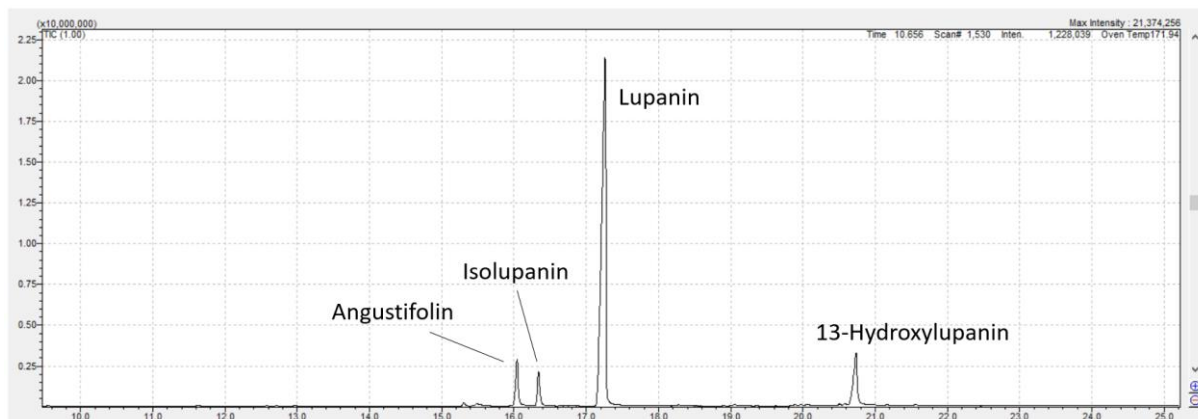


Abbildung 13: chromatografische Trennung der Analyten im getrockneten Rohprodukt zur Standardgewinnung

Das so entstandene Alkaloidmischkonzentrat wurde anschließend mittels Säulechromatografie gereinigt. Dazu wurde der Feststoff in einem Eluentengemisch gelöst, und über eine Kieselgelsäule gegeben. Dabei sollten die einzelnen Alkaloide entsprechend ihres Säuledurchgangs zu unterschiedlichen Zeiten die Reinigungssäule verlassen. In kurzer zeitlicher Auflösung wurden verschiedene Fraktionen des Eluenten aufgefangen und untersucht. Dabei konnten folgende Alkaloidgehalte in den Fraktionen festgestellt werden:

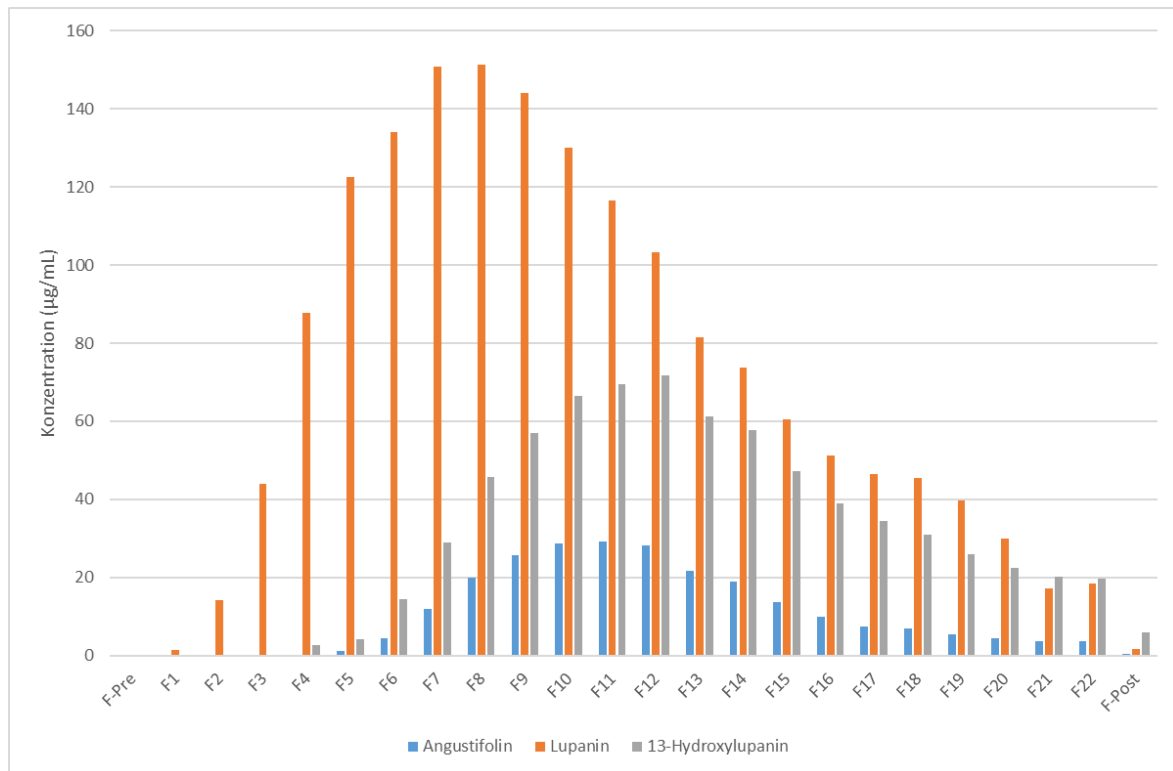


Abbildung 14: Alkaloidkonzentrationen in den Einzelfractionen nach Reinigung

Die erste Trennung verlief unscharf, sodass ein weiterer Trennschritt notwendig wurde.

Nach diesem konnten folgende Fractionen gewonnen werden:

Lupanin-Hydrochlorid

Auswaage: 113 mg

Reinheit GC (area TIC): > 99,8%

13-Hydroxylupanin-Hydrochlorid

Auswaage: 41,1 mg

Reinheit GC (area): > 96%

Hierbei entspricht die Reinheit von Lupanin bereits der eines kommerziellen Standards, sodass dieser in der Routinemessung eingesetzt werden kann. Die der gewonnenen Hydroxylupaninfraktion ist ebenfalls gut und kann als Referenzprobe mitgemessen werden.

3.3 Entwicklung einer GC-Methodik

Die Entwicklung einer GC-MS/MS-Methode war von besonderer Bedeutung, da gaschromatografische Methoden zum einen günstiger als LC-MS/MS-Methoden sind, zum anderen auch stabiler in der Routineanalytik laufen. Allerdings ist die Wahl des Messsystems in erster Linie vom Analyten abhängig. Damit an einem gaschromatografischen System gemessen werden kann, müssen die Analyten in die Gasphase überführt werden können. Dies funktioniert vor allem bei kleinen, flüchtigen Molekülen. Alkaloide sind kaum flüchtig und benötigen spezielle Messprogramme. Die traditionellen Alkaloidmessmethoden basieren auf GC-Methoden mit schlechten Bestimmungsgrenzen.

Die Probenvorbereitung für die Bestimmung mittels GC-MS/MS entspricht der für die LC-Methode.

Probenvorbereitung:

- *Nach Trocknung wird das Material zu einem Pulver vermahlen (<1 mm) und gut durchmischt. Ausgehend von 500g Eingangssprobe vermahlt man ca. 50g. Eine Trocknungstemperatur von 105°C führt nicht zur Zerstörung der obigen Alkaloide. Die Lagerung hat nach guter Lebensmittelpraxis so zu erfolgen, dass ein Verderb unterbunden wird.*

Probenaufarbeitung (Doppelbestimmung)

- *1,0 g Probenmaterial werden in einer 250 ml Schottflasche mit 100 ml Extraktionsmittel (Methanol+Wasser+Essigsäure 80+19,5+0,5) und folgenden internen Standards versetzt:*
 - *1 mg Theophyllin*
 - *1 mg 2-Aminobiphenyl (ABP)*
- *Es wird 2h auf dem Horizontalschüttler bei Raumtemperatur extrahiert.*
- *Die Mischung wird zentrifugiert (10 min, 8000 U/min) und es werden in Zehnerschritten folgende Verdünnungen in Methanol/Wasser 1+1 hergestellt; 100µl+900µl:*
 - *1:10 (1g in 1000ml)*
 - *1:100 (1g in 10 000ml)*
 - *Ggf. 1:1000 (1g in 100 000ml)*
- *Ca. 1 ml der beiden Verdünnungen werden in 1,5 ml Glasvials abgefüllt.*

Die Analysen wurden mit einer Shimadzu TQ8050NX Anlage durchgeführt, die mit einer TG-5HT-Kapillarsäule (VWR; 30 m, 0,25 mm i.d.; 0,1 µm Dicke) ausgestattet war. Die Säulentemperatur wurde zunächst 1 min auf 60°C gehalten, dann mit 40°C/min auf 150°C erhöht, anschließend mit 7°C/min auf 310°C erhöht und dort 5min lang gehalten. Der Massenbereich von 45 bis 500 m/z wurde mit einer Rate von 3,3 Scans/s gescannt. Die Alkaloide wurden durch direkten Vergleich ihrer MS-Spektren und Retentionszeiten mit denen authentischer Proben und mit Daten aus der NIST-MS-Bibliothek (Wiley and Sons) identifiziert.

Bereits nach der Kalibration des Messbereiches zeigten sich erste Nachteile der Messmethode. Eine lineare Anpassung des notwendigen Messbereiches konnte nicht erreicht werden, ist jedoch für eine ordentliche Quantifizierung unerlässlich.

Das folgende Diagramm zeigt, dass der Zusammenhang zwischen relativem Response und Konzentration gerade im höher konzentrierten Bereich nicht mehr linear ist, sondern leichten exponentiellen Charakter aufweist. Dies gilt es zu vermeiden, da nur über eine lineare Verkettung die Messsignale mit den Konzentrationen skaliert werden können.

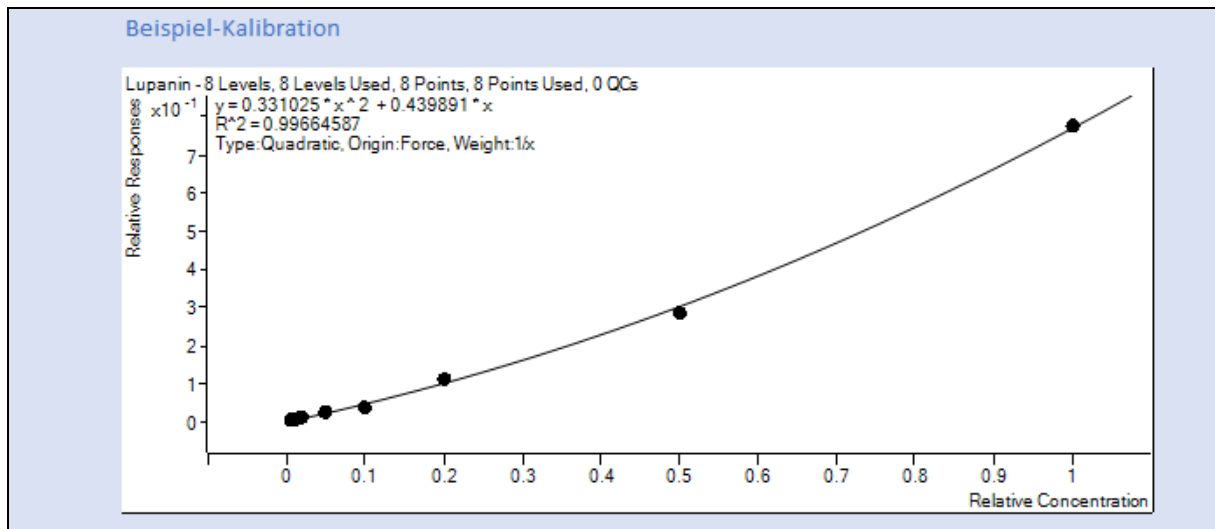


Abbildung 15: Kalibrationsdiagramm für Lupanin auf einem GC-System, erkennbar ist die nicht-Linearität bei höheren Konzentrationen

Im niedrigen Konzentrationsbereich wurde die Methode weiterentwickelt, und erste Messdaten gesammelt. Die Trennschärfe der Einzelanalyten war dabei ausreichend genug, die Peaks konnten ordentlich integriert werden, Matrixeffekte waren zunächst nicht störend. Die Messung eines 1000ng/ml Standards erzielte brauchbare Ergebnisse (Abbildung 16).

Somit konnte festgestellt werden, dass die entwickelte GC-Methode zwar die grundsätzlichen Anforderungen einer routinefähigen Methode mitbringt, allerdings durch die schlechtere Auflösung im höheren Alkaloidkonzentrationsbereich unscharf gegenüber der HPLC-Methodik sein wird.

Zur Validierung der GC-Methode wurden auf beiden Systemen Alkaloidmessungen an der gleichen Probe sowie Referenzmaterialien durchgeführt. Hier zeigte sich, dass die HPLC-Methode deutlich stabiler misst und genauere Ergebnisse liefert (Tabelle 6).

Abschließend kann gesagt werden, dass eine lauffähige GC-Messmethode entwickelt und eingearbeitet wurde. Im Vergleich zur HPLC-Methode ist diese jedoch weniger genau und misst nur bei niedrigen Konzentrationen exakt. Da im Routinebetrieb häufig hohe Alkaloidkonzentrationen zu finden sind, wird wohl auch in Zukunft die HPLC-Methode für den tägli-

chen Laborbetrieb zu bevorzugen sein.

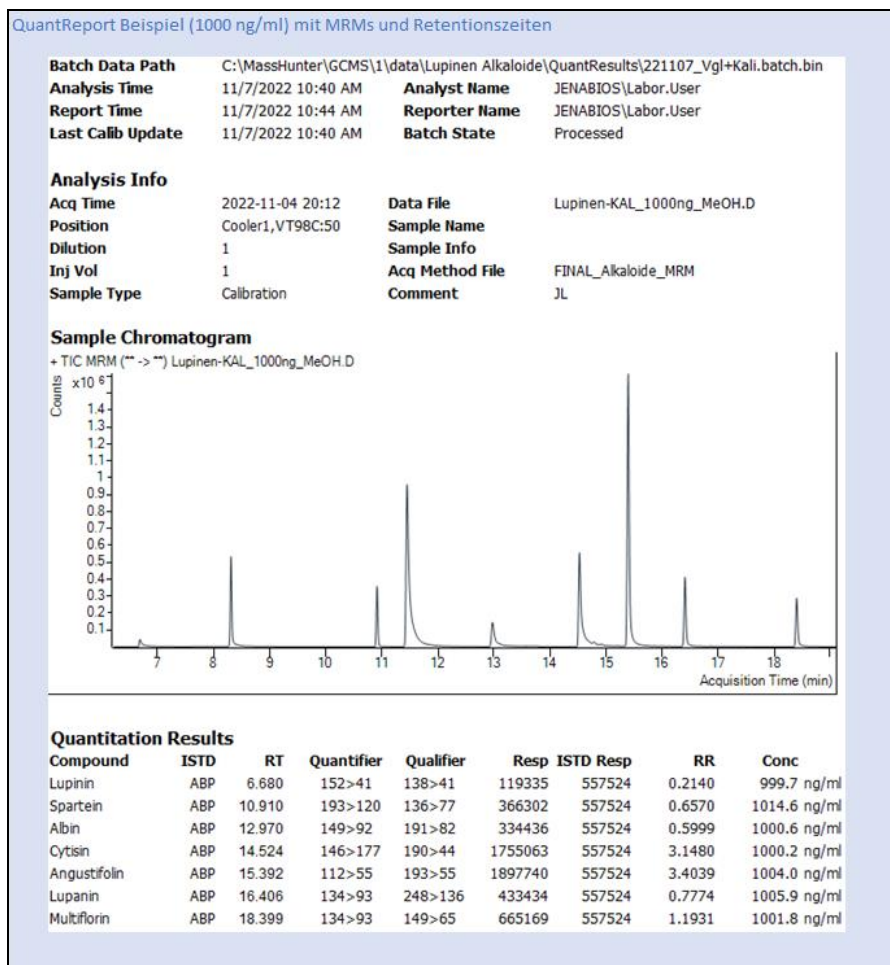


Abbildung 16: Messreport eines 1000ng/ml Multistandards mit Darstellung der Einzelanalyten

Tabelle 6: Gegenüberstellung der Ergebnisse aus GC- und HPLC-Messungen an gleichem Proben- und Referenzmaterial

mg/kg	GC							
	Ref 10	Ref 14	Ref 27	Ref 3837	4328A	4328B	4363A	4363B
Sparteïn	<5	<5	<5	<5	66	76	61	71
Albin	<5	<5	<5	10	24	40	19	13
Cytisin	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5
Angustifolin	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5
Lupanin	198	516	50	575	1510	1570	1340	1380
Multiflorin	<5	<5	<5	7	24	20	25	22
mg/kg	HPLC							
	Ref 10	Ref 14	Ref 27	Ref 3837	4328A	4328B	4363A	4363B
Sparteïn	<5	<5	<5	<5	37	29	20	19
Albin	<5	<5	<5	36	52	57	44	42
Cytisin	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5
Angustifolin	71	78	13	35	30	28	16	20
Lupanin	244	103	27	272	796	791	694	662
Multiflorin	<5	<5	<5	15	41	43	51	48

3.4 Selektion alkaloidarmer Lupinenstämme

Ein wesentliches Ziel des Projektes bestand in der Selektion alkaloidarmer Zuchtstämme. Zur Auswahl standen die zugelassenen Sorten der Saatzucht Steinach sowie Zuchtmaterial, das Ertrag, Alkaloidarmut und zum Teil auch eine Anthraknose-toleranz bzw. -resistenz in sich vereinte. Ausgehend davon, dass ein großer Teil der Kreuzungseltern als alkaloidarm definiert ist, war anzunehmen, dass die Nachkommen alkaloidarm und für die Humanernährung geeignet sind.

In die Kollektion gelangten die in Tabelle 1 aufgeführten Sorten und Zuchtstämme. Um nach Projektende eine Aussage zu den Standort- und Umwelteffekten treffen zu können, wurde darauf geachtet, dass in die Auswertung möglichst viele Jahre und Umwelten einfließen. Nur der Standort Steinach liegt im Bundesland Bayern, alle anderen in Mecklenburg-Vorpommern.

Der Standort Bocksee mit sehr leichtem grundwasserfernen Sandboden ist mit 20 Bodenpunkten der leichteste. Der Ort Dratow ist durch anlehmigen Sand gekennzeichnet. Lehmiger Sand ist vorherrschend auf den Standorten Gülzow, Groß Lüsewitz und Freidorf, wobei der Standort Groß Lüsewitz das beste Wasserhaltevermögen hat. Auffallend ist der Standort Steinach mit 75 Bodenpunkten, Lehm Boden und höhere durchschnittliche Niederschlagsmengen.

Tabelle 7: Anzahl untersuchte Proben der Sorten und Zuchtstämme in den Jahren 2020-2023

Sorte/PG	Bocksee		Dratow	Freidorf	Groß		Steinach	Anzahl Proben/Sorte
	Birkenweg	NSO			Lüsewitz	Gülzow		
Bazalt		1						1
Bo 083521 AR		2	2					4
Bo 163260 AR	1	4	2	1	2	4	4	18
Bo 163317	1	4	2		1	3	3	14
Bo 172410	1	6	1	1	1	3	3	16
Bo 172411	1	4	2		1	3	3	14
Bo 172412 AR	1	5	2	1	1	2	2	14
Bo 172440	1	4	2		1	3	3	14
Bo 172458	1	4	2	1	2	4	4	18
Bo 172460 AR	1	4	2		1	3	3	14
Bo 172467	1	4	1			2	2	10
Bo 172468 AR	1	5	2			1	1	10
Bo 182608 AR		1	1					2
Bo 201259		1	1		1	1	1	5
Bo 211157		1	1		1	1		4
Bo 211259		1	1					2
Bo 211306		3	3		1	1	1	9
Bo 211307		1	1		1	1		4
Bo 222205		1	1					2
Bo 222208		1	1					2

Sorte/PG	Bocksee Birkenweg	Bocksee NSO	Dratow	Freidorf	Groß Lüsewitz	Gülzow	Steinach	Anzahl Pro- ben/Sorte
Bo 222213		1	1					2
Bo 7212		2	2					4
Boregine	1	7	4	1	2	4	4	23
Carabor	1	5	4		1	3	3	17
Homer		1						1
Lunabor		5	4	1	2	3	3	18
Mirabor		1		1	1	1	1	5
Probor	1	6	4	1	2	4	4	22
Vitabor		3	2					5
Anzahl Pro- ben/Standort	13	88	51	8	22	47	45	274

Im Hinblick auf die Einflussfaktoren bei der Alkaloidsynthese wurden in den Erntejahren 2022 und 2023 zusätzlich Proben und Anbaudaten aus den Landessortenversuchen (LSV) verschiedener Bundesländer (BY, BB, MV, NI, NW, ST, TH, SN, SH, BW, HE) gesammelt. Unterstützend wirkte die Sortenförderungsgesellschaft, der an dieser Stelle ein Dankeschön ausgesprochen werden soll. Bei den ausgewählten Sorten handelt es sich um die Sorte Bo-lero der Saatzucht Streng – Engelen GmbH & Co. KG sowie die Sorten der Saatzucht Steinach GmbH & Co. KG. Insgesamt wurden aus den LSV der Ernte 2022 130 Proben und aus den LSV der Ernte 2023 69 Proben zur Verfügung gestellt.

3.5 Einordnung der Zuchtversuchsproben aus den Jahren 2020 – 2023 in die Qualitätsmatrix

Die Auswertung der Ergebnisse fand unter verschiedenen Gesichtspunkten statt. Zum einem wurde der Einfluss des Standortes und Jahres und zum anderen der Sorteneffekt (Genetik) geprüft.

Da die Standorte Birkenweg und Freidorf nur einjährig vorkamen, sind diese Orte in die folgende Auswertung nicht eingeflossen. Abbildung 5 gibt einen Überblick der Mittelwerte der QA-Gehalte an den unterschiedlichen Standorten und Jahren. In der Abbildung 5 wird verdeutlicht, dass der Standort Steinach ungewöhnlich hohe Alkaloidgehalte aufweist. Der 2023 genutzte Schlag am Standort Steinach ist geprägt durch schweren Boden der Bodenart Lehm. Er besitzt mit einer Ackerzahl von 75 eine hohe Ertragsfähigkeit. Gleichzeitig war der Boden Ende April 2023 durch anhaltende Regenfälle und geringe tägliche Sonnenstunden mit Wasser gesättigt, sodass die Lupinen nicht zum geplanten Termin gedrillt werden konnten. Sie wurden daher erst am 03.05.2024 in den Boden gebracht. Durch das Verschieben der Vegetationszeit in den Sommer hinein ist gleichzeitig die gemessene Durchschnittstemperatur etwa 3-4 °C über jener der anderen Standorte (Steinach: ca. 18 °C, andere Standorte ca. 14-15 °C).

Geringe QA-Gehalte traten vor allem bei frühen Aussaatzeitpunkten auf, während die QA-Gehalte mit späteren Aussaatzeitpunkten deutlich anstiegen. Die höchsten QA-Gehalte wurden bei der kürzesten Vegetationszeit von 95 Tagen gemessen, längere Vegetationszeiten führten hingegen zu einem niedrigeren QA-Gehalt. Die längste Vegetationszeit trat 2020 in Groß Lüsewitz mit 138 Tagen nach einer frühen Aussaat auf. Dabei überschritt keiner der untersuchten Genotypen den Grenzwert für die Tierernährung.

Wird der Ausreißer Steinach 2023 nicht betrachtet, ist auffällig, dass der sandige, äußerst leichte und grundwasserferne Standort Bocksee durchgängig hohe QA-Gehalte hervorbringt. Abbildung 6 zeigt an 2 Genotypen den Einfluss der Bodengüte in den Jahren 2020-2022 auf den Alkaloidgehalt. An Standorten mit einer höheren Ackerzahl wurden im Durchschnitt niedrigere QA-Gehalte gemessen als an Standorten mit geringeren Ackerzahlen.

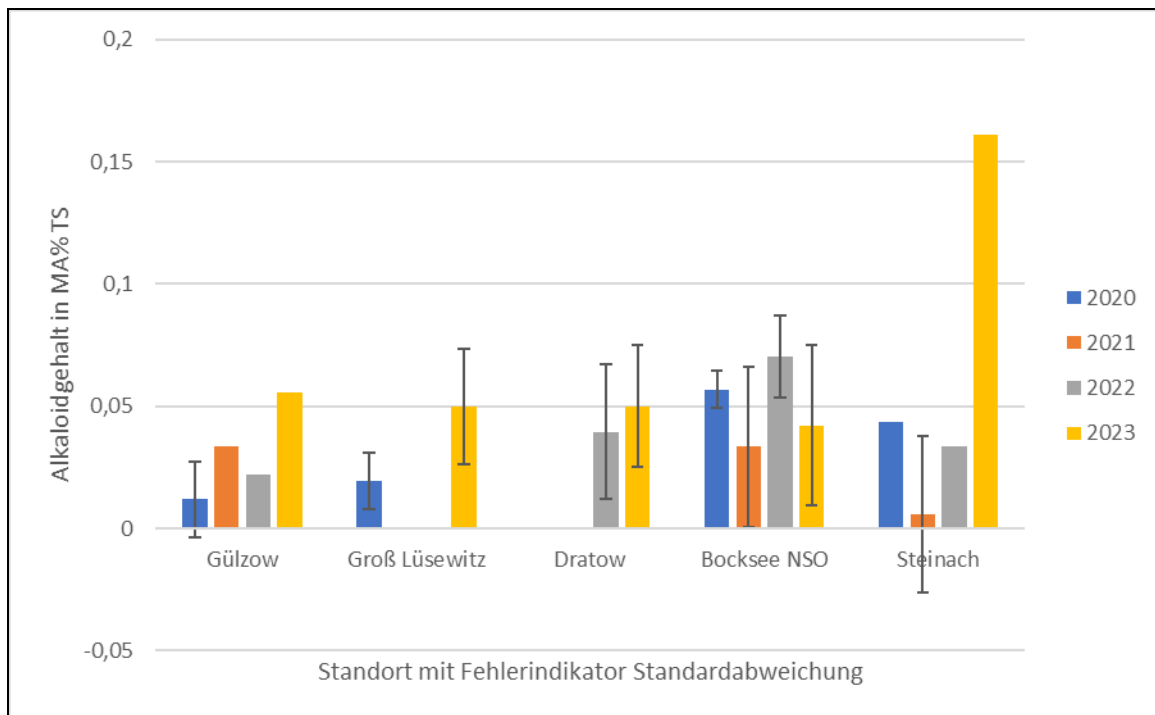


Abbildung 17: Mittelwert von Alkaloidgehalten in Ma. %TS

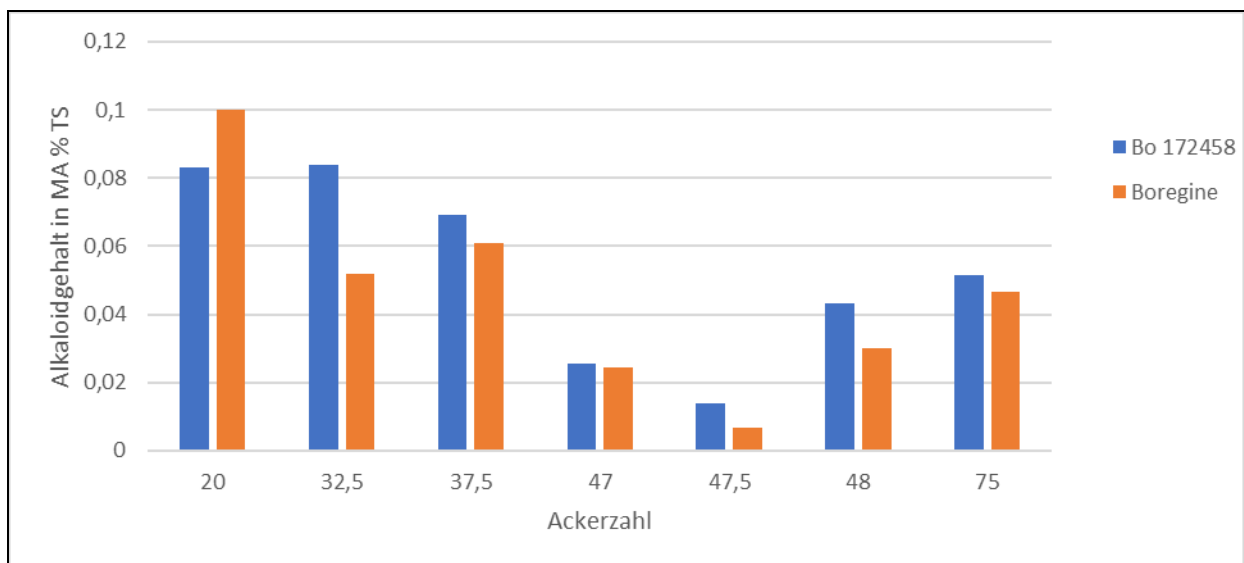


Abbildung 18: Einfluss der Bodengüte auf den QA-Gehalt

Ein weiterer wichtiger Aspekt zur Beurteilung der Leguminosen hinsichtlich der Qualitäten ist der Einfluss der Witterung. Ein Vergleich mit den Wetterdaten in den Abbildungen 7 und 8 der einzelnen Jahre an den unterschiedlichen Standorten zeigt, dass die durchschnittlichen täglichen Niederschläge in der Vegetationszeit sehr ähnliche Muster aufweisen, wobei der Standort Steinach auf einem deutlich höheren Niveau liegt. Der geringste durchschnittliche Niederschlag war am Standort Gülzow zu beobachten. Auffallend ist, dass das Jahr 2021 mit hohen Niederschlagsmengen mit niedrigen Alkaloidgehalten einhergeht. Die durchschnittliche tägliche Temperatur ist im Jahr 2021 in Gülzow deutlich höher als bei den anderen Versuchsstandorten. Zudem ist auch der Effekt der nach hinten verschobenen Vegetationszeit im Jahr 2023 am Standort Steinach mit einer erhöhten Durchschnittstemperatur zu erkennen.

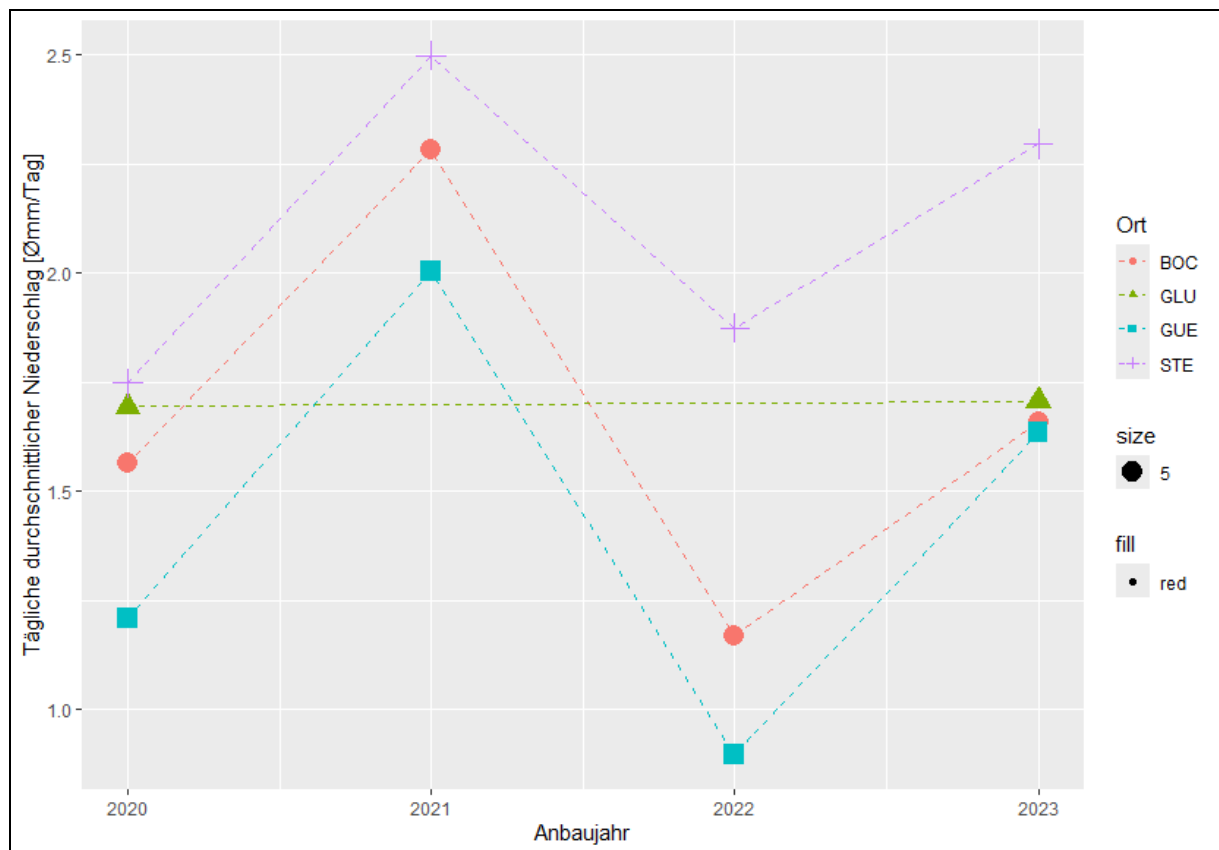


Abbildung 19: Durchschnittswert für den täglichen Niederschlag während der Vegetationszeit

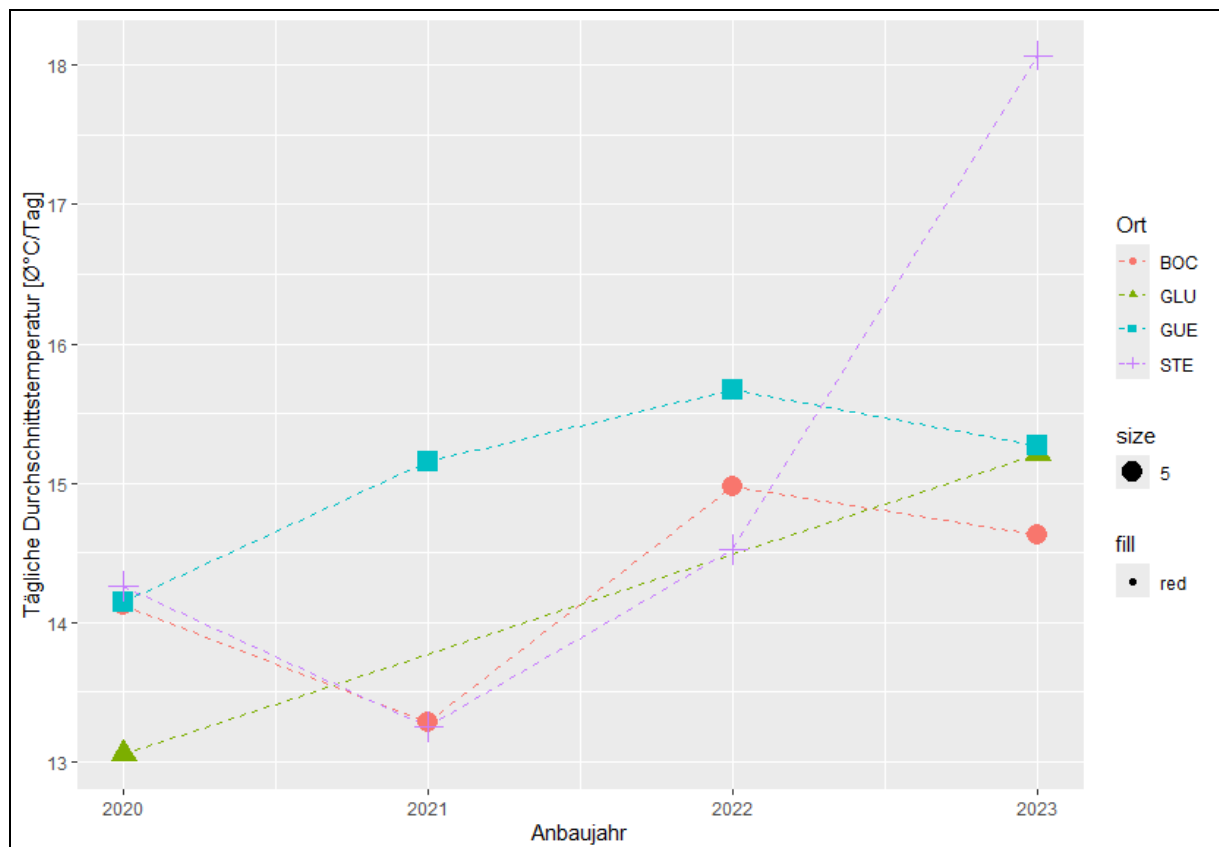


Abbildung 20: Durchschnittswerte für die tägliche Temperatur während der Vegetationszeit

Genotypübergreifend konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen den Witterungsbedingungen (Sonneneinstrahlung, Temperatur und Niederschlag) und der QA-Akkumulation festgestellt werden.

Die statistische Auswertung hat signifikante Unterschiede in der QA-Akkumulation der untersuchten Genotypen aufgezeigt. Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse konnten die Genotypen in die Gruppen „alkaloidarm“, „mittel“ und „alkaloidreich“ eingeteilt werden. Dabei unterscheiden sich die Gruppen „alkaloidarm“ und „alkaloidreich“ signifikant voneinander. In der Gruppe „mittel“ befinden sich Genotypen, die keiner der beiden Gruppen klar zugeordnet werden konnten und sich somit nicht signifikant von den anderen beiden Gruppen unterscheiden. Die Gruppe „alkaloidarm“ besteht aus den Genotypen 1-5, die Gruppe „mittel“ aus den Genotypen 6-8 und die Gruppe „alkaloidreich“ aus den Genotypen 9-11.

Die Einteilung der Gruppen findet sich durch einen Boxplot in Abbildung 9 wieder. Hier sieht man ein ähnliches Muster in der QA-Akkumulation bei den Genotypen 1-5 bzw. der Gruppe „alkaloidarm“, die mit ihrem Median klar unter dem Grenzwert für die Humanernährung von 0,02 % Gesamt-QA-Gehalt in der Trockensubstanz (TS) bleiben. Somit waren deutlich über 50 % der Erntemenge für die Humanernährung nutzbar. Die Genotypen 1 und 2 haben stets für die Humanernährung geeignete Samen produzieren können. Die Genotypen 6-8 bzw. die Gruppe „mittel“ konnte im Median Samen mit Eignung als Tierfutter produzieren. Dabei blieben die Genotypen 6 und 7 im Mittel deutlich unter dem Grenzwert. Genotyp 8 lag im Mittel sehr nah am Grenzwert und konnte somit keine konsistente Eignung als Futtermittel aufweisen. Die Genotypen 9-11 haben im Mittel den Grenzwert zur Verwendung als Futtermittel überschritten.

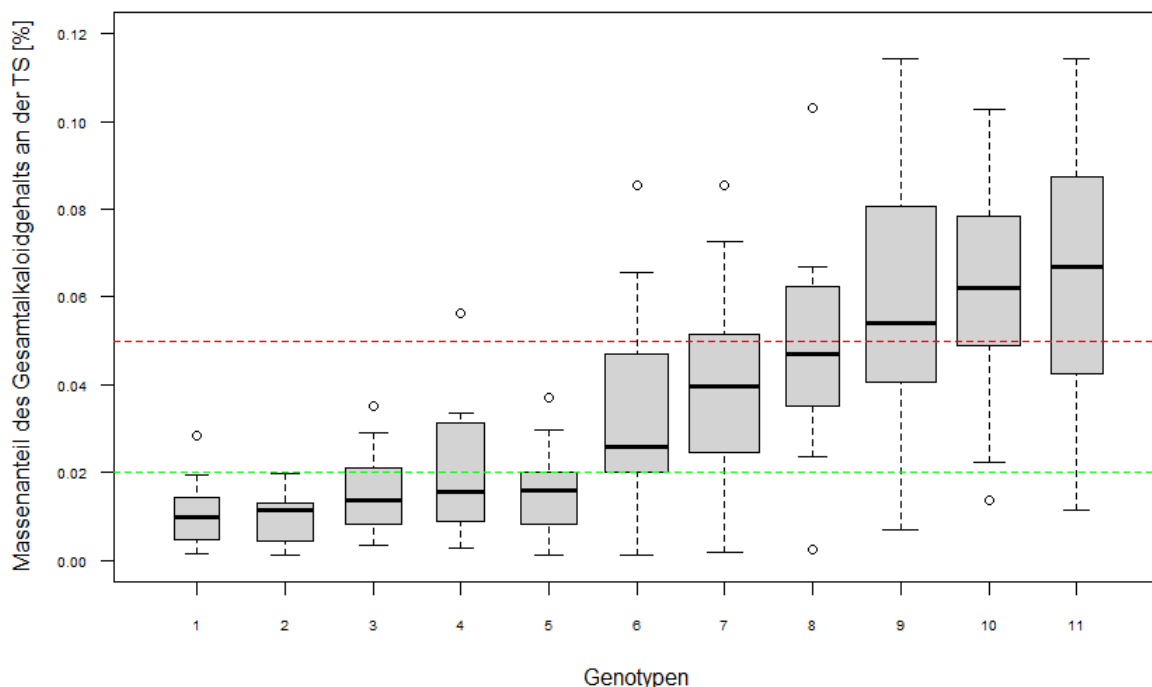


Abbildung 21: Übersicht über den QA-Gehalt der Samen der untersuchten Genotypen, die in allen vier Versuchsjahren vertreten waren. Die gestrichelte grüne Linie kennzeichnet dabei den Grenzwert der Alkaloidkonzentration von 0,02 % für die Humanernährung. Die gestrichelte rote Linie kennzeichnet den Grenzwert der Alkaloidkonzentration von 0,05 % für die Tierernährung

Auf der Grundlage der vorliegenden Ergebnisse kann festgestellt werden, dass die Alkaloidsynthese und -einlagerung einer Vielzahl von Einflussfaktoren unterliegen.

Im Rahmen des Projektes konnten zwei Alkaloidgruppen signifikant voneinander unterschieden werden. Eine Gruppe alkaloidarmer Genotypen überschritt im Durchschnitt der Versuche den Grenzwert für die Humanernährung nicht. Allerdings wurden keine Genotypen identifiziert, die statistisch signifikant und konsistent unter allen Umweltbedingungen unter diesem Grenzwert blieben.

Zwischen den verschiedenen Versuchsstandorten konnten signifikante Unterschiede in den gemessenen QA-Gehalten festgestellt werden, was darauf hinweist, dass die Standortwahl eine entscheidende Rolle bei der QA-Akkumulation spielt. Die Auswahl des Standorts ist daher ein wichtiger Faktor, um die QA-Gehalte zu steuern.

Es zeigte sich, dass Umweltfaktoren die QA-Akkumulation beeinflussen, wobei diese Effekte spezifisch für die jeweiligen Genotypen sind. Bei den alkaloidarmen Genotypen wurde die Wasserverfügbarkeit als ein wichtiger Einflussfaktor identifiziert. Eine ausreichende Wasserversorgung war dabei entscheidend für einen niedrigen QA-Gehalt. Es zeigten sich bei den QA-reichen Genotypen eher zeitliche Faktoren der Pflanzenentwicklung, die indirekt mit anderen Umweltparametern wie Niederschlag, Temperatur und Sonneneinstrahlung zusammenhängen, als entscheidend für die QA-Akkumulation. Dabei wurde eine möglichst frühe Aussaat und lange Vegetationszeit als förderlich für eine niedrige QA-Akkumulation identifiziert.

Gleichzeitig zeigte sich, dass die Bodenqualität in Form der Ackerzahl für die alkaloidreichen Genotypen von entscheidender Bedeutung ist, um die Alkaloidakkumulation nicht zu verstärken. Somit war für diese Genotypen ein Boden mit einer höheren Ackerzahl dazu fähig, den QA-Gehalt auf einem niedrigeren Niveau zu halten.

3.6 Einordnung der Thüringer Ernteproben hinsichtlich Qualität und Ertrag

In den Versuchsjahren 2021 und 2022 wurden in mehreren Thüringer Betrieben Lupinen angebaut. Dabei handelte es sich mehrheitlich um weiße Lupinen in konventioneller Anbauweise. Aus den Landessortenversuchen des TLLLR konnten ebenfalls Saatgutproben gewonnen werden, hier wurden neben der weißen auch die blaue Lupine angebaut.

Insgesamt wurden 59 Saatgutproben aus den Landessortenversuchen sowie 21 Proben aus Landwirtschaftsbetrieben untersucht.

Auf Grund der schlechten Ernten in 2021 und 2022 konnten viele Betriebe nicht zu einem weiteren Anbaujahr in 2023 überzeugt werden. Hier zeigt sich bereits, unabhängig vom Alkaloidgehalt, dass die unstete Ertragslage aller Lupinensorten der Hauptgrund für geringe Anbauflächen war.

So wurden im Durchschnitt über alle Jahre zwischen 3 und 41 dt/ha geerntet. Dies ist im wirtschaftlichen Sinne unbefriedigend, da die Erlöse in der Regel hierbei nicht die Kosten decken. Hierbei zeigen sich auffällige Unterschiede zwischen den Einzelstandorten. Da die Lupine grundsätzlich auf leichten Böden besser gedeiht als auf schweren, ist in Thüringen (schwere Böden) in erster Linie das Niederschlagsgeschehen für die Schwankungen verantwortlich. Im Trockenjahr 2022 lagen die Erträge noch deutlich niedriger als in 2021 mit zum Teil sehr hohen Alkaloidgehalten.

Dieser spielt jedoch in der Vermarktung der Erntegüter eine besondere Rolle.

Erntechargen, welche den Empfehlungswert des BfR von 200 mg/kg Trockenmasse (in Summe aller Alkaloide) einhalten, können für erheblich höhere Erlöse am Markt angeboten werden, wohingegen bittere Chargen lediglich in die Futtermittelindustrie für niedrige Erträge abgegeben werden können.

Betrachtet man die Alkaloidgehalte aus den Thüringer Anbaubereichen, dann wird deutlich, dass kaum Lebensmittelqualitäten (< 200mg/kg Alkaloidgehalt) erreicht werden konnten.

Im Jahr 2021 konnten Lupinen mit niedrigen Alkaloidgehalten geerntet werden. Vor allem im westlichen und nordwestlichen Anbaubereich lagen die untersuchten Lupinenchargen unterhalb des Empfehlungswertes und hätten somit Zugang zum Lebensmittelmarkt haben können. Vor allem die Sorte Celina konnte auf den Standortverhältnissen in Großvargula überzeugen.

Anbaujahr 2021

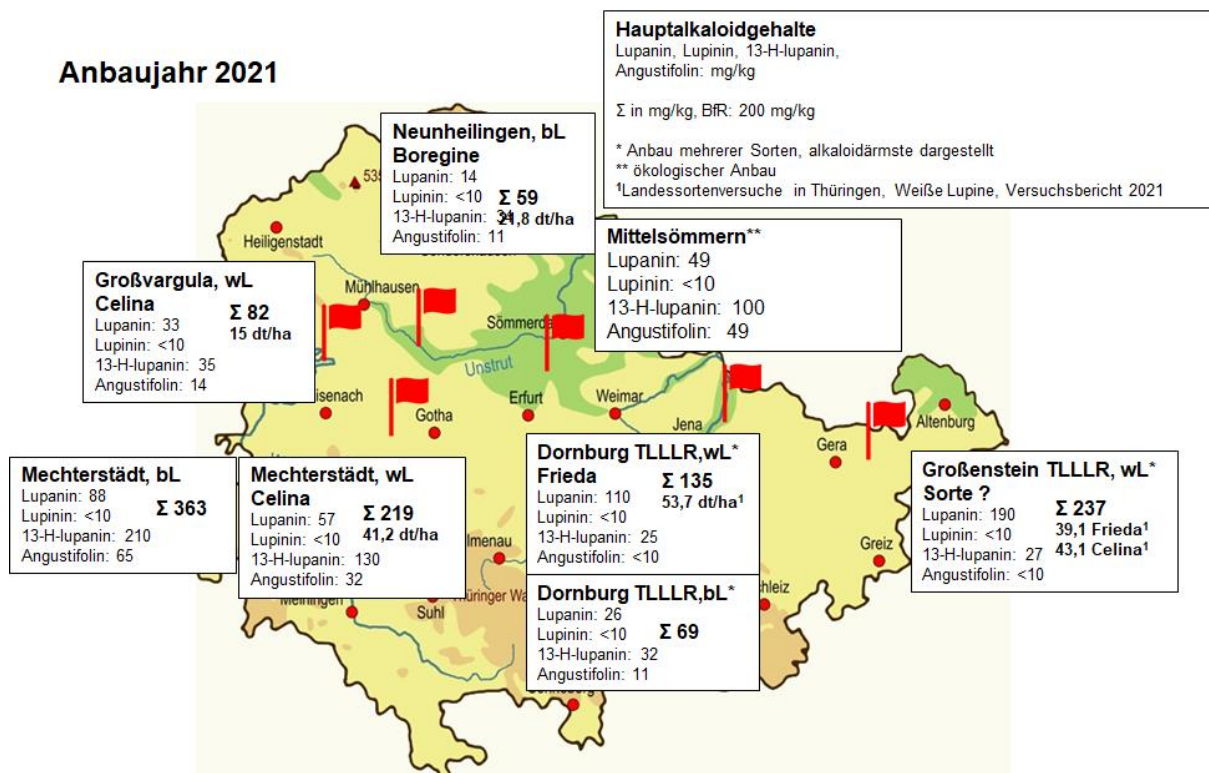


Abbildung 22: Alkaloidgehalte und Erträge der Anbaustandorte 2021 in Thüringen, als Summe ausgewiesen der Gesamtalkaloidgehalt, anzustreben waren < 200 mg/kg

Im Trockenjahr 2022 zeigten sich die bereits beschriebenen, sprunghaften Anstiege der Alkaloidgehalte. Zudem konnten nun, durch die Methodenerweiterung, auch die Alkaloide Albin, Anagryrin und Cytisin mit untersucht werden. Dies führte bei Vorhandensein natürlich zu einem Anstieg der Gesamtsumme der untersuchten Alkaloide.

Anbaujahr 2022

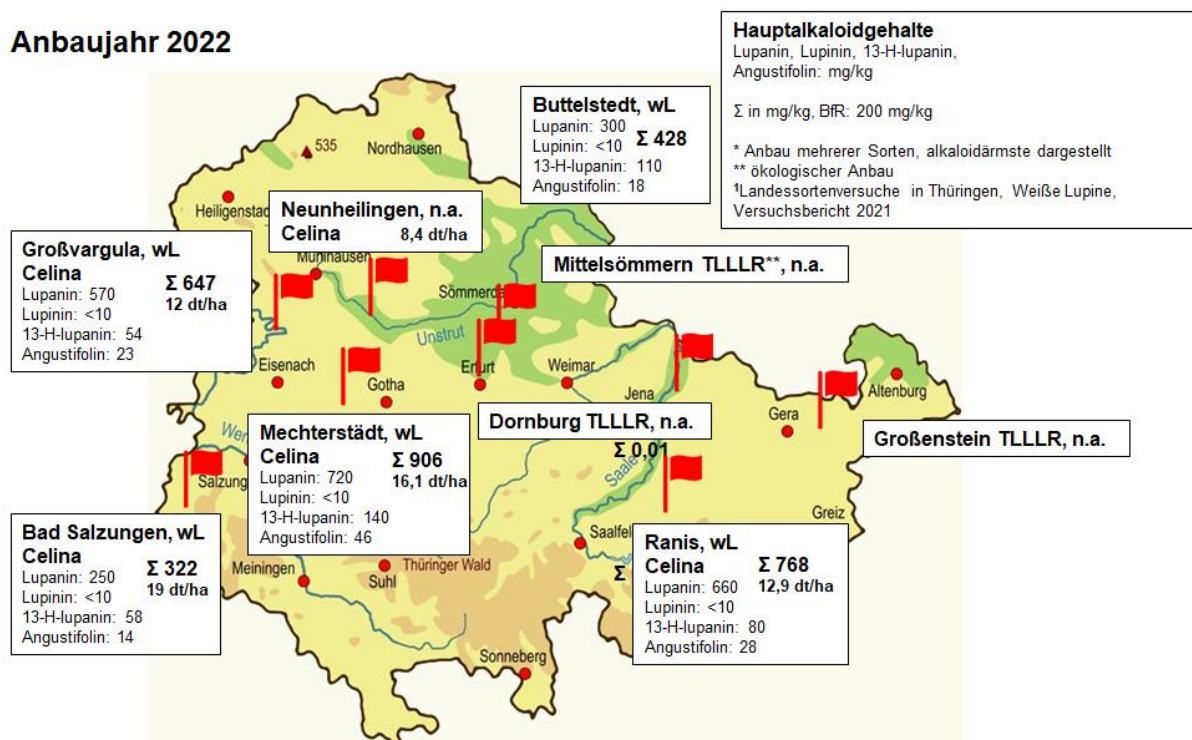


Abbildung 23: Alkaloidgehalte und Erträge der Anbaustandorte 2022 in Thüringen, als Summe ausgewiesen der Gesamtalkaloidgehalt, anzustreben waren < 200 mg/kg

Nach der schlechten Ernte in 2023 und den zum Teil sehr hohen Alkaloidgehalten, ging der Anbau im Jahr 2023 in Thüringen zurück. Lediglich ein bekannter Betrieb sowie die Landessortenversuche hatten Lupinen im Anbau.

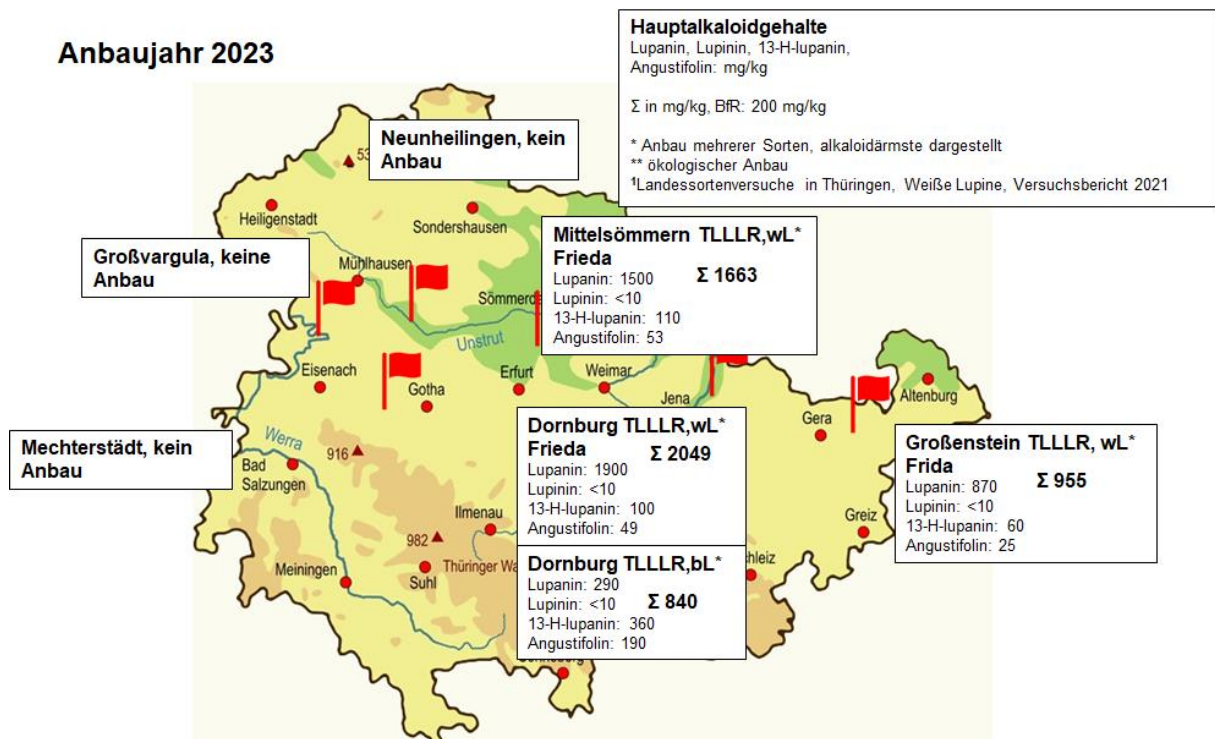


Abbildung 24: Alkaloidgehalte und Erträge der Anbaustandorte 2023 in Thüringen, als Summe ausgewiesen der Gesamtalkaloidgehalt, anzustreben waren < 200 mg/kg

Abschließend kann gesagt werden, dass die zu erreichenden Lupinenqualitäten in Thüringen im Projektzeitraum starken Schwankungen, sowohl im Ertrag als auch in der Bitterkeit (Alkaloidgehalt) unterlagen. Dies führt dazu, dass Landwirte die Lupine als dauerhafte Ackerkultur wenig in Betracht ziehen.

Für Betriebe, die eine eigene Tierhaltung betreiben, können Lupinen eine Ergänzung im Eiweißanteil des Grundfutters darstellen. Allerdings können auf Grund der Bitterkeit nur geringe Mengen eingesetzt werden, was wiederum einschränkend auf den Anbau wirkt.

Der meteorologische Einfluss wirkt sich bei Lupinen nicht nur auf den Ertrag, sondern auch auf die Qualität aus. Da wir in den nächsten Jahren unter Umständen mit längeren und heißeren Perioden rechnen müssen, wird auch in der Zukunft die Lupine eher eine Nebenrolle bei der Fruchtfolgegestaltung spielen.

4 Fazit

Das Kooperationsvorhaben „*Entwicklung von Methoden zur Analyse sekundärer, antinutritiver Pflanzeninhaltsstoffe unter besonderer Berücksichtigung der Lupinenalkaloide-AlkaLyt*“ konnte alle gestellten Ziele und Aufgaben erfüllen.

- Es konnte eine bestehende HPLC-MS/MS-Methode durch Anpassung der Probenvorbereitung und Messroutine um insgesamt 3 Analyten erweitert werden: Albin, Anagyrin, Multiflorin
- Die Standardmethode wurde somit erweitert und ist bereits im Analyseportfolio der JenaBios verfügbar
- Für den geplanten Analyten Tetrahydrorhombifolin konnte kein geeignetes Standardmaterial beschafft werden – dieser wird auch weiterhin nicht Bestandteil der Methode sein
- Für die Validierung wurden Rückstellchargen der Jahre 2006 – 2021 gemessen, und mit Ergebnissen anderer Labore verglichen.
- Auch hier zeigte sich die außerordentliche Stabilität der Methode
- Auf Grundlage der verbesserten HPLC-Methode wurde eine GC-Methode entwickelt
- Die Methode ist messfertig, allerdings nicht sensibel genug, um damit im Routinegeschäft arbeiten zu können
- Mittels GC können zukünftig Proben mit bekannten geringen Gehalten gemessen werden
- Ein Vergleich beider Methoden bestätigte die Robustheit der HPLC-Methode
- Aus einer Saatgutcharge mit besonders hohen Alkaloidgehalten konnten Standardsubstanzen hergestellt werden: Lupanin und Hydroxylupanin
- Beide Standards sind Bestandteil der JenaBios Standarddatenbank
- Durch die Auswertung von langjährig gesammelten Rückstellmustern aus Sortenversuchen konnten Genotypen ermittelt werden, welche statistisch regelmäßig Alkaloidgehalte unterhalb der empfohlenen Höchstgrenze des BfR enthielten
- Diese Genotypen werden in zukünftigen Zuchtversuchen verstärkt eingesetzt
- In einer erarbeiteten Qualitätsmatrix konnte alle Aspekte des Feldbaus mit den Alkaloidgehalten in Verknüpfung gebracht werden – geeignete Genotypen für weitere Zuchtversuche können so direkt erkannt werden
- Weiterhin konnte bei der Auswertung festgestellt werden, dass der Anbaustandort einen wichtigen Einfluss auf die Alkaloidkonzentration haben kann
- Auf sandigen Untergründen konnten signifikant höhere Alkaloidgehalte ermittelt werden, als auf Standorten mit hohen Ackerzahlen
- Bei frühem Aussaatzeitpunkt und entsprechend langen Vegetationszeiten waren die Alkaloidgehalte geringer
- In Thüringen ging der Lupinenanbau über den Projektzeitraum zurück
- Schlechte Erträge und sehr hohe Alkaloidkonzentrationen machten die Lupine für Thüringer Landwirte als Ackerfrucht unrentabel
- Die schweren Thüringer Böden führen zwar zu geringeren Alkaloidgehalten in den Erntegütern, allerdings sind die Erträge zu gering

5 Öffentlichkeitsarbeit

Leguminosenfeldtag am 20.05.2022 in Großenstein – Vortrag und Poster	
Grüne Tage am 24.09.2022 in Erfurt – Stand mit Poster	
Erfahrungsaustausch großkörnige Leguminosen am 30.11.2022 in Ritschenhausen – Poster und Vortrag	
Abschlussworkshop LeguNet am 28.03.2023 - Poster	
Internationaler Lupinenkongress in Rostock 2023 - Poster	

6 Anhang

Übersicht der untersuchten Proben aus den Landessortenversuchen und Landwirtschaftsbetrieben aus den Jahren 2021 bis 2023

Landessortenversuche														
Anbaujahr 2021														
Nr	Versuchsstation	Lupinensorte	Lupinenart	Lupandin mg/kg TS	Lupinin mg/kg TS	13-Hydroxylupandin mg/kg TS	Sparteine mg/kg TS	Angustifolin mg/kg TS	Multiflorin mg/kg TS	Albin mg/kg TS	Anagyrin mg/kg TS	Cytisin mg/kg TS	Isolupandin mg/kg TS	Summe der Alkaloide mg/kg TS
1	Walbeck	Frieda	wL	400	< 10	74	< 10	16	21	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	511
2	Walbeck	Celina	wL	710	< 10	63	< 10	14	80	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	867
3	Gadegast	1	wL	430	< 10	86	< 10	32	31	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	579
4	Gadegast	2	wL	480	< 10	99	< 10	28	51	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	658
5	Gadegast	Frieda	wL	170	< 10	54	< 10	18	< 10	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	242
6	Gadegast	Celina	wL	330	< 10	84	< 10	31	16	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	461
7	LSV	1	wL	280	< 10	38	< 10	14	13	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	345
8	LSV	2	wL	250	< 10	43	< 10	13	< 10	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	306
9	LSV	3	wL	110	< 10	45	< 10	21	< 10	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	176
10	LSV	4	wL	71	< 10	38	< 10	19	< 10	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	128
11	Beetzendorf	Boregine	bL	240	< 10	240	< 10	73	< 10	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	553
12	Beetzendorf	Boruta	bL	48	< 10	42	< 10	17	< 10	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	107
13	Beetzendorf	Carabor	bL	140	< 10	160	< 10	61	< 10	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	361
14	Beetzendorf	Probor	bL	130	< 10	110	< 10	41	< 10	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	281
15	Beetzendorf	Bolero	bL	110	< 10	160	< 10	65	< 10	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	335
16	Großenstein	1	bL	11	< 10	35	< 10	< 10	< 10	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	46
17	Großenstein	2	bL	38	< 10	37	< 10	11	< 10	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	86
18	Großenstein	3	bL	19	< 10	47	< 10	15	< 10	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	81
19	Großenstein	4	bL	< 10	< 10	15	< 10	< 10	< 10	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	15
20	Großenstein	5	bL	15	< 10	43	< 10	< 10	< 10	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	58
21	Großenstein	1	wL	190	< 10	27	< 10	< 10	< 10	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	217
22	Großenstein	2	wL	330	< 10	50	< 10	13	< 10	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	393
23	Dornburg	Frieda	wL	110	< 10	25	< 10	< 10	< 10	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	135
24	Dornburg	Celina	wL	540	< 10	63	< 10	17	25	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	645
25	Dornburg	Primadonna	bL	49	< 10	71	< 10	16	< 10	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	136
26	Dornburg	Boruta	bL	260	< 10	39	< 10	11	< 10	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	310
27	Dornburg	Carabor	bL	47	< 10	91	< 10	27	< 10	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	165
28	Dornburg	Probor	bL	26	< 10	32	< 10	11	< 10	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	69
29	Dornburg	Boregine	bL	57	< 10	82	< 10	26	< 10	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	165
30	Dornburg	Bolero	bL	27	< 10	61	< 10	19	< 10	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	107
31	Großenstein	6	bL	25	< 10	41	< 10	< 10	< 10	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	66
Anbaujahr 2022														
Nr	Versuchsstation	Lupinensorte	Lupinenart	Lupandin mg/kg TS	Lupinin mg/kg TS	13-Hydroxylupandin mg/kg TS	Sparteine mg/kg TS	Angustifolin mg/kg TS	Multiflorin mg/kg TS	Albin mg/kg TS	Anagyrin mg/kg TS	Cytisin mg/kg TS	Isolupandin mg/kg TS	Summe der Alkaloide mg/kg TS
1	Dornburg	Bolero	bL	240	< 10	170	< 10	110	< 10	< 10	< 10	< 10	18	538
2	Dornburg	Boregine	bL	620	< 10	230	< 10	150	< 10	< 10	< 10	< 10	57	1057
3	Kirchengel	Boros	bL	550	< 10	150	12	44	26	68	< 10	< 10	< 10	850
4	Dornburg	Boruta	bL	210	< 10	100	< 10	60	< 10	< 10	< 10	< 10	11	381
5	Kirchengel	Butan	bL	480	< 10	260	< 10	75	25	170	< 10	< 10	< 10	1010
6	Dornburg	Carabor	bL	430	< 10	230	< 10	170	< 10	< 10	< 10	< 10	27	857
7	Dornburg	Celina	wL	1.500	< 10	65	< 10	30	70	120	< 10	< 10	12	1797
8	Kirchengel	Celina	wL	2900	< 10	120	120	33	130	160	< 10	< 10	15	3478
9	Kirchengel	Figaro	wL	53	< 10	50	< 10	17	< 10	51	< 10	< 10	< 10	171
10	Dornburg	Frida	wL	870	< 10	110	< 10	40	18	70	< 10	< 10	< 10	1108
11	Kirchengel	Frida	wL	850	< 10	84	17	22	50	66	< 10	< 10	< 10	1089
12	Dornburg	Lunabor	bL	500	< 10	200	< 10	120	< 10	< 10	< 10	< 10	31	851
13	Dornburg	Swing	bL	550	< 10	220	< 10	140	< 10	< 10	< 10	< 10	29	939
14	Dornburg	Zorba	bL	240	< 10	120	< 10	81	< 10	< 10	< 10	< 10	12	453
Anbaujahr 2023														
Nr	Versuchsstation	Lupinensorte	Lupinenart	Lupandin mg/kg TS	Lupinin mg/kg TS	13-Hydroxylupandin mg/kg TS	Sparteine mg/kg TS	Angustifolin mg/kg TS	Multiflorin mg/kg TS	Albin mg/kg TS	Anagyrin mg/kg TS	Cytisin mg/kg TS	Isolupandin mg/kg TS	Summe der Alkaloide mg/kg TS
1	Großenstein	Celina	wL	1.500	< 10	100	< 10	54	66	95	< 10	< 10	< 10	1.815
2	Großenstein	Frieda	wL	870	< 10	60	< 10	25	57	58	< 10	< 10	< 10	1.070
3	Dornburg	Celina	wL	1.600	< 10	95	< 10	43	50	76	< 10	< 10	13	1.877
4	Dornburg	Frieda	wL	1.900	< 10	100	< 10	49	110	110	< 10	< 10	16	2.285
5	Großenstein	Boregine	bL	350	< 10	190	< 10	120	< 10	< 10	< 10	< 10	31	691
6	Großenstein	Carabor	bL	320	< 10	220	< 10	150	< 10	< 10	< 10	< 10	18	708
7	Großenstein	Bolero	bL	220	< 10	180	< 10	110	< 10	< 10	< 10	< 10	14	524
8	Großenstein	Lunabor	bL	320	< 10	160	< 10	96	< 10	< 10	< 10	< 10	17	593
9	Großenstein	Boruta	bL	220	< 10	94	< 10	50	< 10	< 10	< 10	< 10	13	377
10	Dornburg	Boregine	bL	220	< 10	120	< 10	53	< 10	< 10	< 10	< 10	20	413
11	Dornburg	Carabor	bL	360	< 10	420	< 10	220	< 10	< 10	< 10	< 10	32	1.032
12	Dornburg	Bolero	bL	290	< 10	360	< 10	190	< 10	< 10	< 10	< 10	31	871
13	Dornburg	Lunabor	bL	430	< 10	300	< 10	150	< 10	< 10	< 10	< 10	31	911
14	Dornburg	Boruta	bL	260	< 10	170	< 10	86	< 10	< 10	< 10	< 10	17	533

Landwirtschaftsbetriebe														
Anbaujahr 2021														
Nr	LWB	Lupinensorte	Lupinenart	Lupanin mg/kg TS	Lupinin mg/kg TS	13-Hydroxylupanin mg/kg TS	Sparteine mg/kg TS	Angustifolin mg/kg TS	Multiflorin mg/kg TS	Albin mg/kg TS	Anagyrin mg/kg TS	Cytisin mg/kg TS	Isolupanin mg/kg TS	Summe der Alkaloide mg/kg TS
1	Neunheilingen	Celina	wL	14	< 10	34	< 10	11	< 10	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	59
2	Mechterstätt	Frieda	wL	57	< 10	130	< 10	32	< 10	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	219
3	Mechterstätt	Boregine	bL	88	< 10	210	< 10	65	< 10	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	363
4	Großvargula	Frieda	wL	33	< 10	35	< 10	14	< 10	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	82
5	Mittelsömmern	Celina	wL	49	< 10	100	< 10	49	< 10	n.u.	n.u.	n.u.	n.u.	198
Anbaujahr 2022														
Nr	LWB	Lupinensorte	Lupinenart	Lupanin mg/kg TS	Lupinin mg/kg TS	13-Hydroxylupanin mg/kg TS	Sparteine mg/kg TS	Angustifolin mg/kg TS	Multiflorin mg/kg TS	Albin mg/kg TS	Anagyrin mg/kg TS	Cytisin mg/kg TS	Isolupanin mg/kg TS	Summe der Alkaloide mg/kg TS
1	LWZ Hörseital	Celina	wL	720	< 10	140	< 10	46	32	80	< 10	< 10	< 10	1.018
2	AP Ranis, Celina	Celina	wL	660	< 10	80	< 10	28	40	57	< 10	< 10	< 10	865
3	Großvargula, Celina	Celina	wL	570	< 10	78	< 10	19	29	59	< 10	< 10	< 10	755
4	Tanna, Celina	Celina	wL	620	< 10	36	26	14	33	50	< 10	< 10	< 10	779
5	Großvargula, Feodora	Feodora	wL	32	< 10	54	< 10	23	< 10	13	< 10	< 10	< 10	122
6	Tanna, Frieda	Frieda	wL	710	< 10	82	18	30	41	84	< 10	< 10	< 10	965
7	Gönnatal Agrar, Frieda	Frieda	wL	400	< 10	88	13	20	16	27	< 10	< 10	< 10	564
8	Moorgrund	Celina	wL	250	< 10	58	26	14	17	24	< 10	< 10	< 10	389
9	LWB Stark	Frida	wL	18	420	< 10	14	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	452
Anbaujahr 2023														
Nr	LWB	Lupinensorte	Lupinenart	Lupanin mg/kg TS	Lupinin mg/kg TS	13-Hydroxylupanin mg/kg TS	Sparteine mg/kg TS	Angustifolin mg/kg TS	Multiflorin mg/kg TS	Albin mg/kg TS	Anagyrin mg/kg TS	Cytisin mg/kg TS	Isolupanin mg/kg TS	Summe der Alkaloide mg/kg TS
1	Mittelsömmern	Celina	wL	1.900	< 10	130	< 10	58	110	150	< 10	< 10	< 10	2.348
2	Mittelsömmern	Frieda	wL	1.500	< 10	110	< 10	53	77	85	< 10	< 10	< 10	1.825
3	Mittelsömmern	Boros	wL	58	< 10	32	< 10	27	< 10	20	< 10	< 10	< 10	137
4	Mittelsömmern	Butan	wL	250	< 10	72	< 10	51	12	62	< 10	< 10	< 10	447
5	Mittelsömmern	Figaro	wL	78	< 10	39	< 10	25	< 10	42	< 10	< 10	< 10	184
6	LWB Matthias Frantz, Frieda	Frieda	wL	1.800	< 10	240	< 10	110	150	160	< 10	< 10	10	2.470
7	LWB Matthias Frantz, Tango	Tango	wL	230	< 10	310	< 10	240	< 10	< 10	< 10	< 10	12	792